

DIKTAT

BIOLOGI DAN KAJIAN TERAPANNYA



Oleh:

RASYIDAH, M.Pd

NIDN. 2009029001

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUMATERA UTARA
MEDAN
2020**

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim...

Dengan segala kerendahan hati, penulis sampaikan puji syukur kepada Allah SWT berkat rahmat dan karuniaNya penulis dapat menyusun Diktat Biologi dan Kajian Terapannya.

Diktat ini menggambarkan beberapa terapan yang telah dilakukan disertai bahasan tentang hasil pengamatan yang diperoleh melalui proses penyelidikan di laboratorium. Diktat ini dapat dijadikan sebagai pustaka untuk matakuliah Biologi Umum di Prodi Biologi di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan.

Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih atas dukungan dan bantuan para pimpinan, rekan-rekan dosen, teman sejawat di lingkungan Fakultas Sains dan Teknologi serta UIN Sumatera Utara Medan atas terselesaikannya Modul ini. Semoga Modul ini dapat membantu dan mendukung PBM di Prodi Biologi.

Penulis juga menyadari masih adanya kekurangan dan keterbatasan pada Modul ini, maka penulis tetap mengharapkan saran dari berbagai pihak agar Modul ini bisa dikembangkan dikemudian hari. Akhir kata semoga segala upaya yang penulis lakukan ini bermanfaat bagi kita semua dan Semoga Allah SWT berkenan memberikan berkahnya sehingga semua harapan dan cita-cita penulis dapat terkabulkan. Amin.

Medan, Oktober 2020

Rasyidah, M.Pd.

DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	i
Daftar Isi	ii
Daftar Tabel	iii
Daftar Gambar	iv
BAB 1. Karakteristik Sel	1
BAB 2. Substansi Ergastik	6
BAB 3. Pengaruh Pemberian Starter <i>Azetobacter Xylinum</i> Terhadap Pembentukan Nata Pada Media yang Baru	9
BAB 4. Identifikasi Senyawa Saponin Pada Ekstrak Daun Beberapa Tumbuhan Berkhasiat Obat	22
BAB 5. Bakteroid Pada Bintil Akar Tanaman Kacang-Kacangan	36
BAB 6. Auksin dan Absisi	42
BAB 7. Pengaruh Kualitas Tempe Dengan Bahan Dasar yang Berbeda	47

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil uji kualitatif busa senyawa saponin pada 20 tanaman berkhasiat Obat	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Kumpulan sel epidermis bawah daun <i>Rhoe discolor</i> pada Perbesaran 40x	1
Gambar 1.2 Kumpulan trikoma pada daun <i>Durio zibethinus</i>	2
Gambar 1.3 Organ batang tumbuhan Patah Tulang (<i>Eupharbia tirucalli</i>)	3
Gambar 1.4 Irisan Organ buah Buncis (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	4
Gambar 2.1 Kumpulan sel pada bagian batang <i>Euphorbia tirucalli</i>	7
Gambar 2.2 Irisan Organ buah Buncis (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	7
Gambar 4.1 Struktur kimi saponinsteroid netral	27
Gambar 4.2 Struktur kimia saponin steroid alkaloid	27
Gambar 4.4 Proses pemecahan bentuk organ daun sebelum perebusan	31
Gambar 4.5 Kumpulan tanaman obat yang digunakan dalam penelitian	31
Gambar 4.6 Pembentukan busa saponin	32
Gambar 4.7 Hasil uji busa daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> Linn)	33
Gambar 5.1 Bakteroid pada akar Kacang-kacangan	38
Gambar 5.2 Diferensiasi bakteroid	
Gambar 6.1 Tangkai pada batang daun tumbuhan yang diberi perlakuan	44

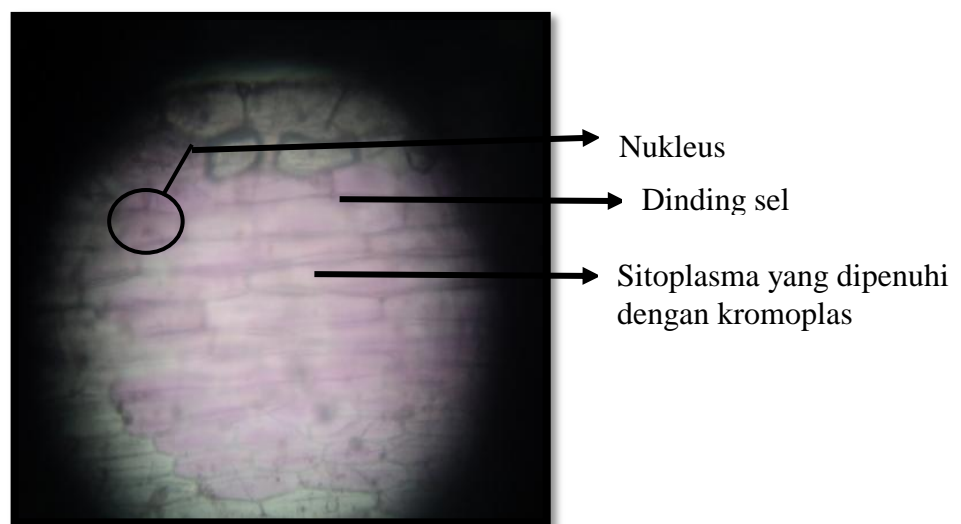
BAB 1

KARAKTERISTIK SEL

Sel memiliki karakteristik yang khas dan dapat berbeda antara sel yang satu dengan sel yang lainnya. Perbedaan antar sel tersebut dikarenakan memiliki fungsi yang berbeda. Pada bab ini akan dibahas mengenai bentuk, susunan dan posisi dalam suatu sel sebagai bagian dari karakteristik sel pada beberapa jenis jaringan sel pada tumbuhan.

Bentuk, Posisi, Susunan Sel pada Jaringan Epidermis

Bentuk sel yang hampir sama dengan yang sel lainnya membuat susunan sel tampak rapat sehingga menyebabkan tidak ada ruang ataupun celah yang memungkinkan berbagai patogen dapat masuk dan menyebabkan kerusakan pada tumbuhan. Selain itu dalam Alberts (2008) dijelaskan bahwa dinding sel pada jaringan epidermis bersifat tahan air dengan susunan yang berlapis (*epidermal cells form a multilayered waterproof barrier*). Maka ciri jaringan seperti ini paling tepat terletak di bagian paling luar dari organ tumbuhan.



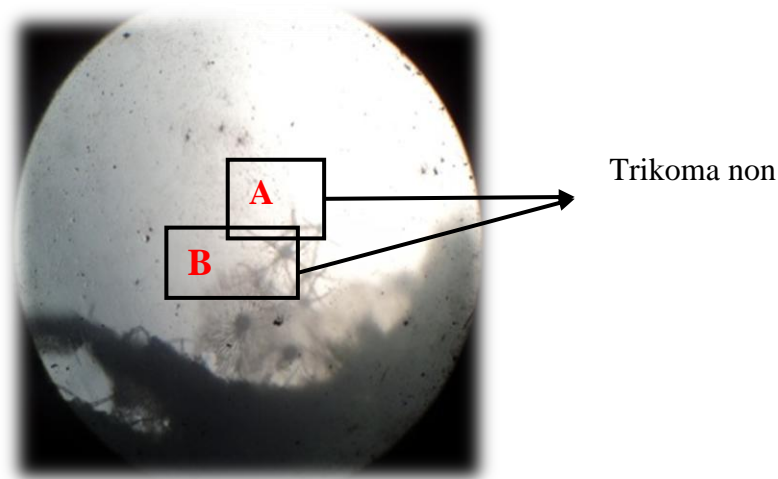
Gambar 1.1: Kumpulan sel epidermis bawah daun *Rhoe discolor* pada perbesaran 40x

Bentuk sel pada jaringan epidermis bawah daun *Rhoe discolor* memiliki bentuk sel yang hampir sama dengan sel yang lain. Bentuk sel berupa segi dengan jumlah segi 6 ataupun

5. Posisi sel terletak di bagian terluar (sehingga disebut jaringan epidermis). Susunan sel tersusun rapat.

Derivat Jaringan Epidermis

Permukaan bawah daun yang kasar menyebabkan daun *Durio zibethinus* sulit untuk dimasuki oleh serangga maupun patogen lainnya. Sehingga tahan untuk hidup bertahun-tahun tanpa perlu diberi perlakuan seperti pemberian pestisida.



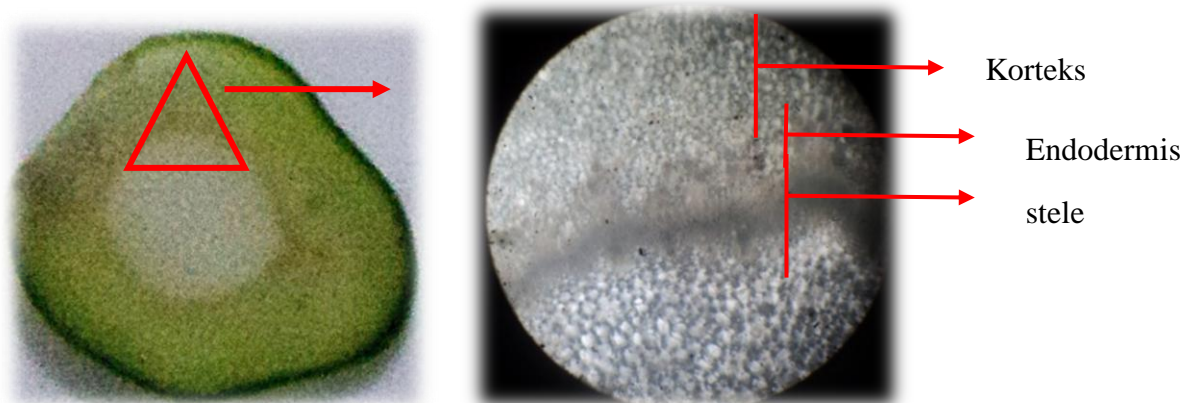
Gambar 1.2: Kumpulan trikoma yang nonglandular pada daun *Durio zibethinus* pada perbesaran 40x. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan dua cara yaitu ada yang kikis (a) sehingga muncul satu trikoma dan ada juga yang diris setipis mungkin (b) sehingga tampak menjadi gabungan dari beberapa trikoma.

Permukaan bawah daun *Durio zibethinus* di bagian bawah terdapat derivat jaringan epidermis bawah permukaan daun. Derivat tersebut berupa trikoma yang non glandular atau tidak mengeluarkan sekret. Dalam Alberts (2008) dijelaskan bahwa trikoma ini lebih tepatnya merupakan modifikasi dari dinding sel epidermis daun (*some specialized plant cell types with appropriately modified cell wall like a trichome*). Trikoma pada permukaan bawah daun *Durio zibethinus* berbentuk bintang berjari lima. Kumpulan trikoma dengan bentuk seperti

bintang yang berjari lima ini menyebabkan permukaan bawah daun *Durio zibethinus* terasa kasar ketika diraba. Susunan trikoma tersebut berbaris dengan trikoma saling menyatu (gambar b). Trikoma yang menutupi permukaan bawah daun *Durio zibethinus* berfungsi dalam mengurangi penguapan. Sehingga pohon durian dapat tumbuh dengan tidak banyak membutuhkan air.

Bentuk, Posisi, Susunan Sel pada Organ Batang Eupharbia tirucalli

Pada bagian batang patah tulang (*Eupharbia tirucalli*), jaringan yang diamati ini merupakan jaringan parenkim atau jaringan dasar karena menjadi tempat bagi jaringan-jaringan yang lain. Seperti jaringan pengangkut, xilem dan floem. Selain itu, terdapat perbedaan yang jelas dengan pengamatan sebelumnya, yaitu pada epidermis daun *Rhoe discolor*.



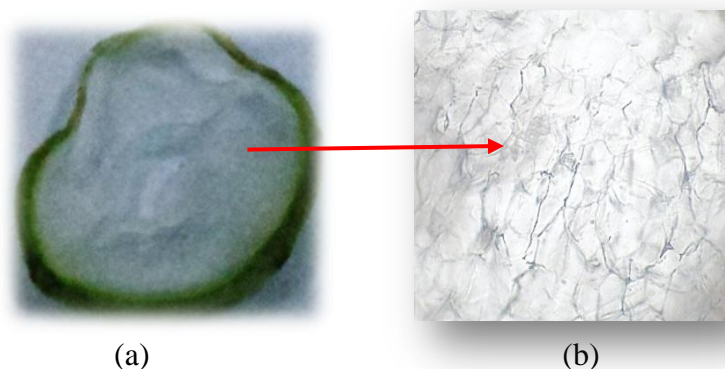
Gambar 1.3: Organ batang sebelum diamati dengan mikroskop (a) dan Kumpulan sel pada bagian batang patah tulang (*Eupharbia tirucalli*) dengan perbesaran 40x (b)

Bentuk sel yang diperoleh dari irisan batang *Eupharbia tirucalli* ini berbeda dengan bentuk sel pada pengamatan sebelumnya yaitu pada epidermis daun *Rhoe discolor*. Sel ini tidak memerlukan bentuk sel yang kokoh dengan segi yang sedikit seperti pada *Rhoe discolor* karena fungsinya hanya sebagai jaringan dasar, bukan sebagai jaringan pelindung. Terletak disebelah dalam jaringan epidermis. Bentuk sel cenderung melingkar dan bersegi banyak.

Tersusun tidak beraturan sehingga menimbulkan celah atau ruang antar sel. Dengan bentuk yang bersegi banyak dan tidak saling rapat, bentuk sel seperti ini disesuaikan dengan letaknya yang berada di sebelah dalam jaringan epidermis. Susunan sel dengan segi banyak menyebabkan sel cenderung tidak beraturan sehingga menimbulkan celah atau ruang antar sel. Ruang antar sel yang terbentuk berfungsi dalam proses pengangkutan zat-zat makan maupun air.

Bentuk, Posisi, Susunan Sel pada Organ Buah Phaseolus vulgaris

Pada bagian buah *Phaseolus vulgaris*, kumpulan sel yang diperoleh termasuk ke dalam jaringan parenkim yang menyimpan banyak cadangan air. Selain itu, terdapat perbedaan yang jelas dengan pengamatan sebelumnya, yaitu pada batang *Eupharbia tirucalli* dan daun *Rhoe discolor*



Gambar 1.4. Organ buah buncis (*Phaseolus vulgaris*) sebelum diamati dengan mikroskop (a) dan Kumpulan sel pada bagian buah *Phaseolus vulgaris* dengan perbesaran 40x (b)

Bentuk cenderung lebih tidak beraturan. Segi-segi pada tiap sel saling berbeda. Hal ini sangat berbeda dengan bentuk sel pada epidermis daun *Rhoe discolor* yang bersegi 5 atau 6. Maupun bentuk sel pada batang *Euphorbia tirucalli* yang bersegi banyak. Bentuk sel yang tidak teratur dan segi tiap sel berbeda-beda ini disesuaikan dengan fungsinya yang lebih cenderung berfungsi sebagai cadangan makanan. Hal ini dapat diamati dengan menekan

bagian sampel yang mengeluarkan cairan lebih banyak dibandingkan pada batang *Euphorbia tirucalli*. Terletak di sebelah dalam jaringan epidermis buah dengan susunan sel saling acak dan tidak teratur.

Bentuk, posisi dan susunan tiap sel berbeda-beda tergantung pada fungsinya. Jaringan epidermis yang berfungsi sebagai pelindung dari patogen yang datang dari luar memiliki bentuk sel yang teratur dan tidak memiliki celah atau ruang sehingga patogen apapun tidak dapat masuk. Lain halnya dengan jaringan di bagian dalam dari epidermis yaitu pada batang *Euphorbia tirucalli* dan buah *Phaseolus vulgaris*. Sebagian besar sel cenderung memiliki ruang-ruang antar sel. Hal ini tidak menjadi masalah karena jaringan ini terletak di bagian dalam jaringan epidermis dan berfungsi dalam transport zat-zat makan dan air yang diperlukan tumbuhan.

Begitu juga dengan derivat epidermis, dalam hal ini adalah pada trikoma yang nonglandular pada epidermis bawah daun *Durio zibethinus*. Trikoma dengan bentuk seperti bintang bejari lima memungkinkan permukaan bawah daun menjadi kasar ketika diraba. Hal ini berfungsi melindungi daun dari serangga maupun patogen lain dan dapat mengurangi penguapan. Sehingga hal ini dapat menjadi salah satu faktor yang menyebabkan pohon *Durio zibethinus* tahan terhadap hama maupun kekurangan air dan hidup bertahun-tahun.

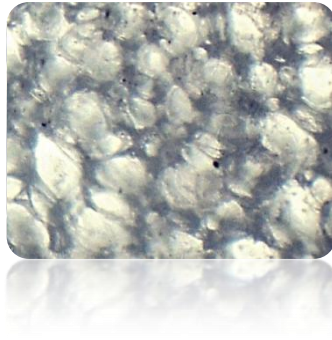
BAB 2

SUBSTANSI ERGASTIK

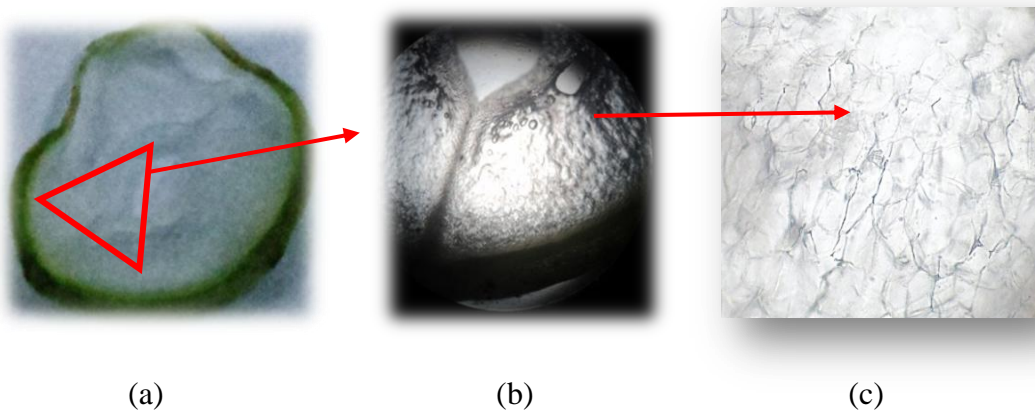
Ergastik berasal dari bahasa Yunani erg yang berarti kerja, adalah produk-produk metabolisme. Substansi ini dapat muncul dan hilang pada waktu yang berbeda dalam hidup suatu sel. Zat-zat ergastik adalah bahan cadangan dan bahan buangan yang diproduksi sel. Substansi biasanya mempunyai struktur yang lebih sederhana dari pada badan-badan protoplasmik (Fahn, 1991).

Pengamatan terhadap permukaan daun *Rhoe discolor* bagian bawah (gambar 1), diketahui bahwa jaringan epidermis ini dipenuhi dengan plastida berupa kromoplas. Kromoplas dominan pada bagian permukaan bawah daun dibandingkan dengan bagian permukaan atas daun. Sehingga tampak dari luar, warna ungu pada permukaan bawah daun. Zat/pigmen dengan warna ungu ini tersebar di cairan sel/ sitoplasma. Pigmen ini larut dalam cairan sel epidermis dan terdiri atas antosianin yang menyebabkan warna merah muda, merah atau ungu.

Pengamatan terhadap bagian batang patah tulang (*Eupharbia tirucalli*) diperoleh bahwa jaringan yang diamati ini merupakan jaringan parenkim atau jaringan dasar karena menjadi tempat bagi jaringan-jaringan yang lain. Seperti jaringan pengangkut, xilem dan floem. Sehingga pada jaringan ini, komponen sel yang dominan adalah zat-zat terlarut seperti air dan zat makanan yang diperlukan dikarenakan jaringan parenkim ini memuat jaringan pengangkut xilem yang mengangkut air dari akar dan jaringan pengangkut floem yang mengangkut zat fotosintat dari daun.



Gambar 2.1: Kumpulan sel pada bagian batang *Euphorbia tirucalli* dengan bentuk bersegi banyak dan mengandung cadangan makanan.



Gambar 2.2. Organ buah buncis (*Phaseolus vulgaris*) sebelum diamati dengan mikroskop (a), bagian yang diamati difokuskan pada bagian (b) dengan perbesaran 40x dan tampak kumpulan sel pada bagian buah *Phaseolus vulgaris* dengan perbesaran 80x (b)

Pengamatan terhadap bagian buah *Phaseolus vulgaris*, diketahui bahwa kumpulan sel ini termasuk ke dalam jaringan parenkim yang cenderung untuk menyimpan lebih banyak cadangan air. Hal ini dapat diamati dengan menekan bagian sampel yang mengeluarkan cairan lebih banyak dibandingkan pada batang *Euphorbia tirucalli*. Sehingga komponen sel pada daging buah *Phaseolus vulgaris* yang dominan berupa cadangan air dan zat-zat terlarut lainnya.

Tiap sel memiliki komponen sel yang berbeda dengan sel lainnya. Ada sifat dominan dari tiap sel yang berbeda pada letak, bentuk maupun fungsinya. Sel yang cenderung berfungsi melindungi organ tumbuhan dari gangguan berbagai macam patogen cenderung tidak memiliki banyak cairan sel dan dapat mengalami modifikasi berupa adanya trikoma

seperti pada permukaan bawah daun *Durio zibethinus* dan permukaan bawah daun *Rhoe discolor* yang mengkilat dengan warna ungu.

Sedangkan jaringan yang berada di sisi dalam dari jaringan epidermis cenderung memiliki bentuk sel yang bersegi banyak, tidak teratur dan memiliki banyak cadangan air dan zat terlarut lainnya. Hal ini disesuaikan dengan fungsinya dalam proses pengangkutan zat dalam tumbuhan.

BAB 3

PENGARUH PEMBERIAN STARTER *AZETOBACTER XYLINUM* TERHADAP PEMBENTUKAN NATA PADA MEDIA YANG BARU

Nata de Coco adalah makanan yang banyak mengandung serat, mengandung selulosa kadar tinggi yang bermanfaat bagi kesehatan dalam membantu pencernaan. Kandungan kalori yang rendah pada Nata de Coco merupakan pertimbangan yang tepat produk Nata de Coco sebagai makan diet. Dari segi penampilannya makanan ini memiliki nilai estetika yang tinggi, penampilan warna putih agak bening, tekstur kenyal, aroma segar. Dengan penampilan tersebut maka nata sebagai makanan desert memiliki daya tarik yang tinggi (Misgiyarta, 2007).

Nata diartikan dari bahasa Spanyol yang berarti krim (cream). Jadi, nata de coco adalah krim yang berasal dari air kelapa. Krim ini dibentuk oleh mikroorganisme *Acetobacter xylinum* melalui proses fermentasi. Mikroorganisme ini membentuk gel pada permukaan larutan yang mengandung gula. Bakteri *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh dan berkembang membentuk nata de coco karena adanya kandungan air sebanyak 91,23 %, protein 0,29 %, lemak 0,15 %, karbohidrat 7,27 %, serta abu 1,06 % di dalam air kelapa. Selain itu, terdapat juga nutrisi – nutrisi berupa sukrosa, dektrose, fruktose dan vitamin B kompleks yang terdiri dari asam nikotinat 0,01 ug, asam pantotenat 0,52 ug, biotin 0,02 ug, riboflavin 0,01 ug dan asam folat 0,003 ug per ml. Nutrisi – nutrisi tersebut merangsang pertumbuhan *Acetobacter xylinum* untuk membentuk nata de coco.

Nata de Coco dibentuk oleh spesies bakteri asam asetat pada permukaan cairan yang mengandung gula, sari buah, atau ekstrak tanaman lain. Beberapa spesies yang termasuk bakteri asam asetat dapat membentuk selulosa, namun selama ini yang paling banyak dipelajari adalah *A. xylinum*. Bakteri *A. xylinum* termasuk genus *Acetobacter*. Bakteri *A. xylinum* bersifat Gram negatif dan berbentuk batang pendek atau kokus (Misgiyarta, 2007).

Pemanfaatan limbah pengolahan kelapa berupa air kelapa merupakan cara mengoptimalkan pemanfaatan buah kelapa. Limbah air kelapa cukup baik digunakan untuk substrat pembuatan Nata de Coco. Adanya gula sukrosa dalam air kelapa akan dimanfaatkan oleh *A. xylinum* sebagai sumber energi, maupun sumber karbon untuk membentuk senyawa metabolit diantaranya adalah selulosa yang membentuk Nata de Coco. Senyawa peningkat pertumbuhan mikroba (*growth promoting factor*) akan meningkatkan pertumbuhan mikroba, sedangkan adanya mineral dalam substrat akan membantu meningkatkan aktifitas enzim kinase dalam metabolisme di dalam sel *A. xylinum* untuk menghasilkan selulosa (Misgiyarta, 2007).

Dalam Suliantari (1993) dijelaskan bahwa untuk membuat nata dapat digunakan air kelapa atau juice buah-buahan yang mengandung gula dengan menggunakan starter dari bakteri *Acetobacter xylinum*. Dalam media cair tersebut, bakteri akan tumbuh dan menghasilkan suatu lapisan berwarna putih yang semakin lama akan semakin tebal dan lapisan itulah yang dikenal dengan 'nata'. Dari analisa kimia yang telah dilakukan terhadap nata dari sari buah nenas (Suliantari, 1993), terdapat kandungan protein sebanyak 0,67%, lemak 0,37%, karbohidrat 70,4% dan kalori 0,34 kal.

Bibit nata adalah bakteri *Acetobacter xylinum* yang dapat membentuk serat nata jika ditumbuhkan dalam air kelapa yang sudah diperkaya dengan karbon dan nitrogen melalui proses yang terkontrol. Dalam kondisi demikian, bakteri tersebut akan menghasilkan enzim yang dapat menyusun zat gula menjadi ribuan rantai serat atau selulosa. Dari jutaan renik yang tumbuh pada air kelapa tersebut, akan dihasilkan jutaan lembar benang-benang selulosa yang akhirnya nampak padat berwarna putih hingga transparan, yang disebut sebagai nata. *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada pH 3,5 – 7,5, namun akan tumbuh optimal bila pH nya 4,3, sedangkan suhu ideal bagi pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* pada suhu 28°– 31 °C. Bakteri ini sangat memerlukan oksigen (Deacon, 1997).

Asam asetat atau asam cuka digunakan untuk menurunkan pH atau meningkatkan keasaman air kelapa. Asam asetat yang baik adalah asam asetat glacial (99,8%). Asam asetat dengan konsentrasi rendah dapat digunakan, namun untuk mencapai tingkat keasaman yang diinginkan yaitu pH 4,5 – 5,5 dibutuhkan dalam jumlah banyak. Selain asam asetat, asam-asam organik dan anorganik lain bisa digunakan (Azhar, 2012)

Starter *Azetobacter xylinum*

Starter adalah populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. Starter mikroba dapat dijumpai dalam berbagai bentuk, salah satunya adalah ragi untuk pembuatan roti. Mikroba pada starter tumbuh dengan cepat dan fermentasi segera terjadi. Media starter biasanya identik dengan media fermentasi. Media ini diinokulasi dengan biakan murni dari agar miring yang masih segar (umur 6 hari).

Sumber starter/jenis starter yang digunakan didalam ragi umumnya terdiri dari berbagai bakteri dan fungi (khamir dan kapang), yaitu *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Amylomyces*, *Endomycopsis*, *Saccharomyces*, *Hansenula anomala*, *Lactobacillus*, dan *Acetobacter* dan sebagainya. Berdasarkan uraian diatas berkaitan dengan enzim dari mikroorganisme yaitu enzim yang diperoleh dari mikroba didapatkan dengan melalui serangkaian proses panjang. Contoh enzim dari mikroorganisme adalah Amilase (*Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Bacillus subtilis*), Selulase (*Aspergillus niger*, *Trichoderma viridae*), Dekstranase (*Leuconostoc mesenteroides*), Glukosa oksidase (*Aspergillus niger*), Invertase (*Saccharomyces cerevisiae*), Laktase (*S. Fragilis*), Lipase (*Aspergillus niger*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*), Pektinase (*Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Rhizopus sp*), Protease (Proteinase) (*A. oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*), Renin mikroba (*Mucor nihei*, *M pusillus*).

Enzim yang dihasilkan dari sumber lain adalah yang didapat dari tumbuhan dan hewan, contoh tumbuhan (enzim bromelin, papain, aktinidin, amilase, dan liposigenase). Hewan (kemotripsin, katalase, lipase, rennet, dan tripsin).

Acetobacter xylinum adalah salah satu jenis bakteri yang banyak bermanfaat dalam dunia industri seperti nata de coco, nata de cassava, nata de soya, tepung mocaf, dan lain-lain. *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri yang menguntungkan dan tidak berbahaya (Kazumi, 2012).

Klasifikasi bakteri :

Kingdom	:Bacteria
Phylum	:Proteobacteria
Class	:Alphaproteobacteria
Ordo	:Rhodospirillales
Family	:Acetobacteraceae
Genus	: <i>Acetobacter</i>
Spesies	: <i>Acetobacter xylinum</i>

Acetobacter xylinum merupakan bakteri gram negatif karena mengandung substansi lipid yang lebih tinggi serta dinding selnya lebih tipis, lebih rentan pada antibiotik, penghambatan warna basa kurang dihambat, pertumbuhan nutriennya relatif sederhana dan tahan terhadap perlakuan fisik. Bakteri autotrof karena sumber nutriennya mengandung unsur C,H,O,N atau karbohidrat sebagai penyusun protoplasma, sumber energi untuk pertumbuhannya memerlukan cahaya, sumber karbon untuk pertumbuhannya membutuhkan CO₂.

Bersifat non motil atau polar ialah bakteri yang tidak bergerak, tidak bereproduksi dengan tunas (*budding*) tidak membentuk endospora (spora yang berdinding tebal didalam

bakteri). Bakteri mikroaerofilik artinya bakteri ini dapat tumbuh baik bila ada sedikit oksigen atmosferik, kelompok bakteri asam asetat melalui proses oksidasi alkohol dapat menghasilkan asam asetat. Pada kultur sel yang masih muda, individu sel berada sendiri-sendiri dan transparan. Koloni yang sudah tua membentuk lapisan menyerupai gelatin yang kokoh menutupi sel koloninya. Termasuk bakteri mesofil yaitu tumbuh pada suhu 25-40°C (Kazumi, 2012).

Sifat-sifat *Acetobacter xylinum*

1. Sifat Morfologi

Acetobacter xylinum merupakan bakteri berbentuk batang pendek, yang mempunyai panjang 2 mikron dan lebar 0,6 mikron, dengan permukaan dinding yang berlendir. Bakteri ini bisa membentuk rantai pendek dengan satuan 6 – 8 sel. Bakteri ini tidak membentuk endospora maupun pigmen. Pada kultur sel yang masih muda, individu sel berada sendiri-sendiri dan transparan. Koloni yang sudah tua membentuk lapisan menyerupai gelatin yang kokoh menutupi sel dan koloninya. Pertumbuhan koloni pada medium cair setelah 48 jam inokulasi akan membentuk lapisan pelikel dan dapat dengan mudah diambil dengan jarum ose.

2. Sifat Fisiologi

Bakteri ini dapat membentuk asam dari glukosa, etil alkohol, dan propil alkohol, tidak membentuk indol dan mempunyai kemampuan mengoksidasi asam asetat menjadi CO₂ dan H₂O. Sifat yang paling menonjol dari bakteri ini adalah memiliki kemampuan mempolimerisasi glukosa hingga menjadi selulosa. Selanjutnya, selulosa tersebut membentuk matrik yang dikenal sebagai nata. Faktor – faktor dominan yang mempengaruhi sifat fisiologi dalam pembentukan nata adalah ketersediaan nutrisi, derajat keasaman, temperatur, dan ketersediaan oksigen.

Pembentukan Nata

Nata de coco adalah salah satu makanan olahan dari air kelapa sebagai salah satu makanan diet karena kandungan serat yang melimpah yang dalam proses fermentasinya memanfaatkan bakteri *Acetobacter xylinum*. Dalam pembuatan nata de coco selama ini, starter yang ditambahkan belum ada standar kualitas yang pasti berapa jumlah bakteri hidup.

Keberadaan starter bakteri *A.xylinum* sangat diperlukan dalam pembuatan nata. Tanpa adanya bakteri ini, lapisan nata tidak dapat terbentuk. Volume larutan induk (starter) besar sekali pengaruhnyaterhadap ketebalan nata yang dihasilkan. Semakin besar volume larutan induk, maka semakin banyak jumlah bakteri *A.xylinum* yang ada (Nurfiningsih, 2009).Volume *A. xylinum* yang ditambahkan dalam pembuatan nata, antara sumber yang satu dengan yang lain berbeda, bahkan ada sumber yang tidak menjelaskan secararinci volume starter yang harus ditambahkan.

Rony Palungkun (1993:103) menjelaskan dalam proses pembuatan nata de coco langkah kelima adalah larutan diinokulasikan dengan cairan bibit (starter) lalu diperam selama 2 minggu dalam ruangan yang tertutup.Menurut Ani Suryani, dkk (2005:26) starter yang ditambahkan ke dalam setiap 1 liter media pembentukan nata sebanyak 50-100 ml.

Bakteri *Acetobacter xylinum* mengalami pertumbuhan sel. Pertumbuhan sel didefinisikan sebagai pertumbuhan secara teratur semua komponen di dalam selhidup. Bakteri *Acetobacter xylinum* mengalami beberapa fase pertumbuhan sel yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase pertumbuhan eksponensial, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap, fase menuju kematian, dan fase kematian.

a) Fase adaptasi

Begitu dipindahkan ke media baru, bakteri *Acetobacter xylinum* tidak langsung tumbuh dan berkembang. Pada fase ini, bakteri akan terlebih dahulu menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungan barunya. Fase adaptasi bagi *Acetobacter xylinum* dicapai antara 0 – 24 jam atau \pm 1 hari sejak inokulasi.

b) Fase pertumbuhan awal

Pada fase ini, sel mulai membelah dengan kecepatan rendah. Fase ini menandai diawalinya fase pertumbuhan eksponensial. Fase ini dilalui dalam beberapa jam.

c) Fase pertumbuhan eksponensial

Fase ini disebut juga sebagai fase pertumbuhan logaritmik, yang ditandai dengan pertumbuhan yang sangat cepat. Untuk bakteri *Acetobacter xylinum*, fase ini dicapai dalam waktu antara 1- 5 hari tergantung pada kondisi lingkungan. Pada fase ini juga, bakteri mengeluarkan enzim ekstraseluler polimerase sebanyak – banyaknya, untuk menyusun polimer glukosa menjadi selulosa.

d) Fase pertumbuhan lambat

Pada fase ini, terjadi pertumbuhan yang diperlambat karena ketersediaan nutrisi yang telah berkurang, terdapatnya metabolit yang bersifat toksik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dan umur sel yang telah tua.

e) Fase stasioner

Pada fase ini, jumlah sel yang tumbuh relatif sama dengan jumlah sel yang mati. Penyebabnya adalah di dalam media terjadi kekurangan nutrisi, pengaruh metabolit toksik lebih besar, dan umur sel semakin tua. Namun pada fase ini, sel akan lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim jika dibandingkan dengan ketahanannya pada fase lain. Matrik nata lebih banyak diproduksi pada fase ini.

f) Fase menuju kematian

Pada fase ini, bakteri mulai mengalami kematian karena nutrisi telah habis dan sel kehilangan banyak energi cadangannya.

g) Fase kematian

Pada fase ini, sel dengan cepat mengalami kematian, dan hampir merupakan kebalikan dari fase logaritmik. Sel mengalami lisis dan melepaskan komponen yang terdapat didalamnya.

Faktor –faktor yang Mempengaruhi Terbentuknya Nata

Adapun beberapa faktor yang berkaitan dengan kondisi nutrisi, adalah sebagai berikut:

1) Sumber karbon

Sumber karbon yang dapat digunakan dalam fermentasi nata adalah senyawa karbohidrat yang tergolong monosakarida dan disakarida. Pembentukan nata dapat terjadi pada media yang mengandung senyawa – senyawa glukosa, sukrosa, dan laktosa. Sementara yang paling banyak digunakan berdasarkan pertimbangan ekonomis, adalah sukrosa atau gula pasir. Penambahan sukrosa harus mengacu pada jumlah yang dibutuhkan. Penambahan yang berlebihan, disamping tidak ekonomis akan mempengaruhi tekstur nata, juga dapat menyebabkan terciptanya limbah baru berupa sisa dari sukrosa tersebut. Namun sebaliknya, penambahan yang terlalu sedikit, menyebabkan bibit nata menjadi tumbuh tidak normal dan nata tidak dapat dihasilkan secara maksimal.

2) Sumber nitrogen

Sumber nitrogen bisa digunakan dari senyawa organik maupun anorganik. Bahan yang baik bagi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dan pembentukan nata adalah ekstrak yeast dan kasein. Namun, amonium sulfat dan amonium fosfat (di pasardikenal dengan ZA) merupakan bahan yang lebih cocok digunakan dari sudut pandang ekonomi dan kualitas nata yang dihasilkan. Banyak sumber N lain yang dapat digunakan dan murah seperti urea.

3) Tingkat keasaman (pH)

Meskipun bisa tumbuh pada kisaran pH 3,5 – 7,5 , bakteri *Acetobacter xylinum* sangat cocok tumbuh pada suasana asam (pH 4,3). Jika kondisi lingkungan dalam suasana basa, bakteri ini akan mengalami gangguan metabolisme selnya.

4) Temperatur

Adapun suhu ideal (optimal) bagi pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* adalah 28⁰C – 31⁰C. Kisaran suhu tersebut merupakan suhu kamar. Pada suhu di bawah 28⁰C, pertumbuhan bakteri terhambat.

Demikian juga, pada suhu diatas 31⁰C, bibit nata akan mengalami kerusakan dan bahkan mati, meskipun enzim ekstraseluler yang telah dihasilkan tetap bekerja membentuk nata.

5) Udara (oksigen)

Bakteri *Acetobacter xylinum* merupakan mikroba aerobik. Dalam pertumbuhan, perkembangan, dan aktivitasnya, bakteri ini sangat memerlukan oksigen. Bila kekurangan oksigen, bakteri ini akan mengalami gangguan dalam pertumbuhannya dan bahkan akan segera mengalami kematian. Oleh sebab itu, wadah yang digunakan untuk fermentasi nata de coco, tidak boleh ditutup rapat. Untuk mencukupi kebutuhan oksigen, pada ruang fermentasi nata harus tersedia cukup ventilasi.

Analisis tahapan-tahapan pembuatan nata de coco

Pembuatan nata de coco pada penelitian ini diawali dengan mencampurkan gula sebagai sumber karbon, urea sebagai sumber nitrogen dan asam asetat glasial sebagai pengatur pH ke dalam media air kelapa. Berkaitan dengan penambahan gula, metabolisme *Acetobacter xylinum* selanjutnya akan membentuk selaput selulosa atau lapisan nata. Dalam Hayyim & Ohad (1995) dijelaskan bahwa karbohidrat pada medium akan dipecah menjadi glukosa yang kemudian berikatan dengan asam lemak (Guanosin trifosfat) untuk membentuk prekursor penciri selulosa oleh enzim selulosa sintetase, kemudian dikeluarkan ke lingkungan membentuk jalinan selulosa pada permukaan medium. Selama metabolisme karbohidrat oleh *Acetobacter xylinum* terjadi proses glikolisis yang dimulai dengan perubahan glukosa menjadi glukosa 6-posfat yang kemudian diakhiri dengan terbentuknya asam piruvat. Glukosa 6-P yang terbentuk pada proses glikolisis inilah yang digunakan oleh *Acetobacter xylinum* untuk menghasilkan selulosa.

Selanjutnya, media yang sudah diperkaya oleh nutrisi ini dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit, Pemanasan ini berfungsi sebagai sterilisasi agar media tidak terkontaminasi oleh bakteri lain yang tidak diinginkan. Setelah melalui proses pendinginan

pada suhu kamar selama 24 jam, lalu dilakukan penambahan starter atau bibit (*Acetobacter xylinum*) yang diperoleh dari pabrik pembuatan nata de coco, ke dalam media air kelapa tersebut. Masa inkubasi yang diperlukan untuk membentuk lapisan nata adalah 2 minggu.

Pada pembuatan starter, sebenarnya dapat dilakukan secara mandiri. Namun memerlukan ketekunan dan sterilisasi yang tinggi. Sebagaimana hasil wawancara oleh pihak pabrik dijelaskan bahwa pembuatan starter menggunakan bahan dari buah nanas. Nanas secara alami telah hidup/ada bakteri *Acetobacter Xylinum*. Penambahan gula saat proses pembuatan starter dimaksudkan sebagai makanan untuk difermentasi oleh bakteri *Acetobacter Xylinum*. Dengan kata lain, asalnya bakteri berjumlah sedikit, namun ketika diberi nutrisi gula akan semakin bertambah banyak.

Pembentukan lapisan nata oleh aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum*

Pada saat fermentasi, dalam Hayyim & Ohad (1995) dijelaskan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* yang telah dimasukan ke dalam media air kelapa akan mengalami peningkatan jumlah koloni secara cepat, kemudian bakteri yang ada pada media tersebut memproduksi serat selulosa dalam jumlah banyak dengan bantuan enzim-enzim isomerase dan enzim-enzim polimerase yang juga diproduksi sendiri oleh bakteri tersebut, sehingga pada bagian permukaan media air kelapa terlihat keruh atau terbentuk gel dengan viskositas yang lebih tinggi daripada cairan yang ada di bawahnya. Semakin lama lapisan gel tersebut semakin tebal dan sangat jelas terlihat, sedangkan jumlah cairan pada media tersebut semakin lama semakin sedikit.

Namun lapisan nata yang terbentuk tidak langsung dapat dikonsumsi karena memiliki kadar asam yang tinggi sehingga perlu dilakukan perebusan terlebih dahulu. Rasa asam pada lapisan nata ini disebabkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri asam asetat (Deacon, 1997). Lebih lanjut Deacon (1997) menjelaskan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum*

akan mensintesis selulosadalam jumlah yang banyak saat ada banyak sumber gula. Bakteri ini bersifat aerob(*oxygen-requiring*), dan tumbuh setelah adanya aktivitas dari organism fermentative seperti yeast (ragi atau jamur bersel satu). Bakteri *Acetobacter xylinum* selanjutnya akan mengubah hasil fermentasi dari *yeast* tersebut ke dalam bentuk yang lebih mudah untuk dioksidasi (*converting the fermentation end products to more oxidised forms*). Yaitu mengubah etanol menjadi asam asetat. Sehingga bakteri *Acetobacter xylinum* juga disebut sebagai bakteri asam aseat.

Fase-fase pertumbuhan bakteri *Azetobacter xylinum*.

a) fase adaptasi

Apabila bakteri dipindah ke media baru maka bakteri tidak langsung tumbuh melainkan beradaptasi terlebih dahulu. Pada fase ini terjadi aktivitas metabolisme dan pembesaran sel, meskipun belum mengalami pertumbuhan. Fase pertumbuhan adaptasi dicapai pada 0-24 jam sejak inokulasi.

b) fase pertumbuhan awal

Fase pertumbuhan awal dimulai dengan pembelahan sel dengan kecepatan rendah. Fase ini berlangsung beberapa jam saja.

c) fase pertumbuhan eksponensial

Fase eksponensial dicapai antara 1-5 hari. Pada fase ini bakteri mengeluarkan enzim ekstraselulerpolimerase sebanyak-banyaknya untuk menyusun polimer glukosa menjadi selulosa (matrik nata). Fase ini sangat menentukan kecepatan suatu strain *Acetobacter xylinum* dalam membentuk nata.

d) fase pertumbuhan lambat

Fase pertumbuhan lambat terjadi karena nutrisi telah berkurang, terdapat metabolik yang bersifat racun yang menghambat pertumbuhan bakteri dan

umur sel sudah tua. Pada fase ini pertumbuhan tidak stabil, tetapi jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dibanding jumlah sel mati.

e) fase pertumbuhan tetap

Fase pertumbuhan tetap terjadi keseimbangan antara sel yang tumbuh dan yang mati. Matrik nata lebih banyak diproduksi pada fase ini.

f) fase kematian.

Fase kematian dimulai saat nutrisi dalam media sudah hampir habis. Pada fase kematian sel dengan cepat mengalami kematian. Bakteri hasil dari fase ini tidak baik untuk strain nata.

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil yang diperoleh

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kualitas nata berdasarkan hasil wawancara dengan pihak pabrik pembuatan nata de coco adalah:

a) Suhu

Faktor suhu telah disesuaikan dengan kebutuhan bakteri *Azotobacter xylinum* yaitu pada suhu ruangan yaitu 28°C - 31°C.

b) Kebutuhan Oksigen

Bakteri nata *Acetobacter xylinum* merupakan mikroba aerobik. Jika kekurangan oksigen, bakteri ini akan mengalami gangguan atau hambatan dalam pertumbuhannya. Sehingga wadah yang digunakan untuk fermentasi nata tidak boleh ditutup rapat untuk mencukupi kebutuhan oksigen. Penutupan wadah yang dilakukan hanya dengan menggunakan kertas koran, dibungkus dan diikat. Penutupan tetap dilakukan sekeadarnya karena udara yang secara langsung mengenai produk nata, dapat menyebabkan terjadinya kegagalan proses pembuatan nata.

c) Sumber Cahaya

Pembuatan nata pada ruang gelap akan mempercepat pembentukan struktur nata dan lapisan nata yang dihasilkan akan tebal. Ruang gelap yang dimaksud adalah ruang gelap yang tidak mendapatkan cahaya matahari secara langsung ataupun cahaya lampu.

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa terdapat perbedaan hasil yaitu terdapat 2 wadah yang berhasil memiliki kualitas nata yang baik namun terdapat 1 wadah yang gagal membentuk lapisan nata. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh penempatan wadah yang belum tepat. Dua buah wadah yang berhasil membentuk nata ditempatkan pada laci bawah meja penelitian yang memiliki pintu laci. Sedangkan wadah yang 1 lagi dan tidak berhasil membentuk lapisan nata ditempatkan dilaci yang tidak memiliki pintu laci. Sehingga masih terkena cahaya dari luar..

d) Sanitasi

Faktor lainnya yang memiliki peran penting dalam keberhasilan pembuatan nata de coco adalah sanitasi. Berdasarkan hasil yang diperoleh, walaupun lapisan nata telah berhasil terbentuk, namun warna yang dihasilkan masih agak kusam dan aroma sangat asam.

Hal ini dapat disebabkan oleh factor sanitasi yang masih rendah. Sanitasi yang diperlukan meliputi : sanitasi perorangan (tidak berbicara, menggunakan masker, menggunakan sarung tangan), lingkungan (udara bersih, jauh dari keramaian, aerasi baik) dan peralatan (alat telah disterilisasi).

BAB 4

IDENTIFIKASI SENYAWA SAPONIN PADA EKSTRAK DAUN BEBERAPA TUMBUHAN BERKHASIAT OBAT

Pemanfaatan tanaman obat saat ini mulai banyak dilakukan penelitian dan eksplorasi. Hal tersebut disebabkan adanya berbagai efek samping yang ditimbulkan obat sintesis. Tumbuhan obat dapat berupa tanaman lapisan terbawah, liana, terna, perdu dan berbagai jenis pohon. Keberadaan tumbuhan tersebut ada di dalam hutan maupun di lingkungan sekitar kita seperti di pinggiran jalan yang berfungsi sebagai tanaman peneduh, tanaman hias maupun tanaman yang tumbuh secara liar. Walaupun begitu, ada kendala terhadap keberadaan tanaman obat ini yaitu tumbuhan obat terus mengalami erosi dengan pesat yang diakibatkan oleh beberapa hal antara lain kerusakan habitat akibat alih fungsi hutan menjadi kompleks perumahan, pelebaran jalan, daya regenerasi yang lambat pada beberapa jenis tanaman terutama untuk jenis tumbuhan tahunan (*perennialcrop*) dan kurangnya perhatian terhadap upaya pelestarian antara lain melalui usaha budidaya (Galingging dan Bhermana, 2007). Selain itu proses modernisasi dan munculnya beberapa masalah seperti tekanan ekonomi, penambahan penduduk, sosial budaya dan peraturan baru, memacu terjadinya kerusakan atau hilangnya sumber daya hayati yang belum terkaji. Perlu adanya perhatian terhadap keberadaan tanaman obat salah satunya dengan eksplorasi khasiat dan pendataan tanaman obat di lingkungan sekitar. Khasiat tanaman obat pada umumnya disebabkan oleh aktifitas senyawa minor yang terdapat pada tanaman tersebut. Senyawa ini dikenal dengan sebutan metabolit sekunder.

Metabolit sekunder diproduksi tanaman sebagai salah satu cara untuk mempertahankan keberadaannya atau sebagai alat pertahanan diri. Metabolit sekunder ada yang memang terkandung dalam tanaman, ada pula metabolit yang baru terbentuk pada saat tanaman mengalami serangan atau gangguan dari luar (Aviana, 2006). Saponin merupakan

suatu glikosida yaitu campuran karbohidrat sederhana dengan aglikon yang terdapat pada bermacam-macam tanaman (Kirk and Othmer, 1967). Saponin dibedakan berdasarkan hasil hidrolisisnya menjadi karbohidrat dan sapogenin, sedangkan sapogenin terdiri dari dua golongan yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin banyak dipelajari terutama karena kandungannya kemungkinan berpengaruh pada nutrisi (Appeabaum and Birk, 1979). Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah, bersifat racun bagi hewan berdarah dingin.

Proses identifikasi senyawa metabolit sekunder jenis saponin merupakan salah satu upaya untuk dapat mengetahui khasiat suatu tanaman tersebut. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai sapotoksin (Prihatma, 2001). Saponin paling tepat diekstraksi dari tanaman dengan pelarut etanol 70-95% atau metanol. Ekstrak saponin akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan metanol karena saponin bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut daripada pelarut lain (Harbone, 1987). Pada penelitian ini, akan digunakan beberapa tanaman obat berkhasiat yang dapat menyembuhkan penyakit akibat toksin/racun. Selanjutnya tanaman-tanaman obat tersebut akan diidentifikasi kandungan senyawa metabolitnya dengan jenis saponin.

Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada

satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator, dan sebagai molekul sinyal. Singkatnya, metabolit sekunder digunakan organisme untuk berinteraksi dengan lingkungannya. Senyawa metabolit sekunder diklasifikasikan menjadi 3 kelompok utama, yaitu:

1. Terpenoid (Sebagian besar senyawa terpenoid mengandung karbon dan hidrogen serta disintesis melalui jalur metabolisme asam mevalonat.) Contohnya monoterpena, seskuiterpena, diterpena, triterpena, dan polimer terpena.
2. Fenolik (Senyawa ini terbuat dari gula sederhana dan memiliki cincin benzena, hidrogen, dan oksigen dalam struktur kimianya.) Contohnya asam fenolat, kumarina, lignin, flavonoid, dan tanin.
3. Senyawa yang mengandung nitrogen. Contohnya alkaloid dan glukosinolat.

Sebagian besar tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder memanfaatkan senyawa tersebut untuk mempertahankan diri dan berkompetisi dengan makhluk hidup lain di sekitarnya. Tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder (seperti: quinon, flavonoid, tanin, dll.) yang membuat tanaman lain tidak dapat tumbuh di sekitarnya. Hal ini disebut sebagai alelopati. Berbagai senyawa metabolit sekunder telah digunakan sebagai obat atau model untuk membuat obat baru, contohnya adalah aspirin yang dibuat berdasarkan asam salisilat yang secara alami terdapat pada tumbuhan tertentu. Manfaat lain dari metabolit sekunder adalah sebagai pestisida dan insektisida, contohnya adalah rotenon dan rotenoid.

Metabolit Sekunder Golongan Saponin

Beberapa metabolit sekunder lainnya yang telah digunakan dalam memproduksi sabun, parfum, minyak herbal, pewarna, permen karet, dan plastik alami adalah resin, antosianin, tanin, saponin, dan minyak volatil. Saponin adalah jenis glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena dan banyak ditemukan dalam tumbuhan.

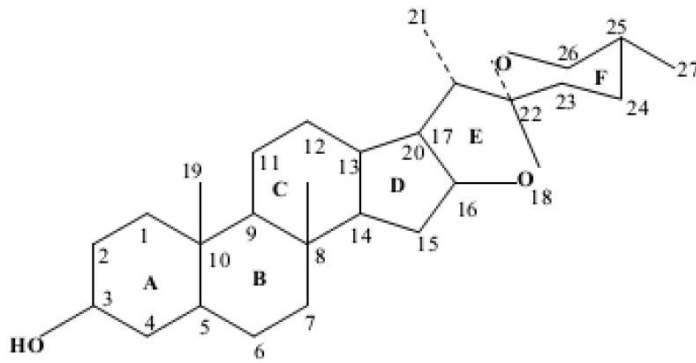
Saponin mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi: immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, hipoglikemik, dan efek hypokholesterol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dan dapat menyebabkan hemolisis. Dalam pemakaiannya saponin bisa dipakai untuk banyak keperluan, misalnya dipakai untuk membuat minuman beralkohol, dalam industri pakaian, kosmetik, membuat obat-obatan, dan dipakai sebagai obat tradisional. Walaupun saponin bisa diisolasi dari binatang tingkat rendah, sebenarnya saponin ditemukan terutama dalam tumbuh-tumbuhan. Namanya diambil dari Genus suatu tumbuhan yaitu *Saponaria*, akar dari famili *Caryophyllaceae* dapat dibuat sabun. Saponin juga bisa didapatkan dalam beberapa famili tumbuhan yang lain.

Uji identifikasi saponin dilihat melalui karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai *Sapotoksin*. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin

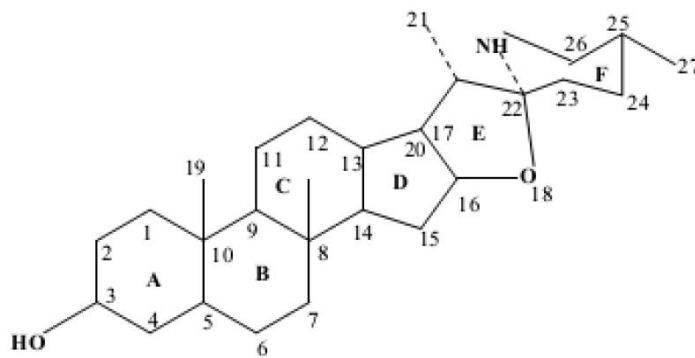
sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga.

Saponin terdiri dari Sapogenin yaitu bagian yang bebas dari Glikosida yang disebut juga “Aglycone”. Sapogenin mengikat sakarida yang panjangnya bervariasi dari monosakarida hingga mencapai 11 unit monosakarida. Yang paling sering panjang sakaridanya antara 2-5 unit. Apabila sakaridanya monosakarida yang sering dijumpai adalah D-Glukosa dan D Galaktosa². Sapogenin (Aglycone) bisa triterpenoid atau steroid. Karena Sapogenin yang bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka Saponin bersifat amfifilik (*amphiphilic* atau *surfactant properties*). Dengan demikian Saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel.

Saponin diklasifikasikan menjadi 2 kelas yaitu : saponin steroid dan saponin triterpenoid. Kelas Steroid ada dua macam yaitu Netral dan yang kedua Alkaloid Steroid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Saponin steroid dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. Saponin steroid diekskresikan setelah konjugasi dengan asam glukoronida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid. Triterpenoid Saponin dapat terjadi dalam bentuk bebas (Aglycon) atau Sapogenin, akan tetapi Steroid Saponin selalu dalam bentuk Saponin dan tidak pernah bebas sebagai Aglycon. Karbohidrat residu terikat dengan Aglycon melalui ikatan eter atau ester. Contoh senyawa saponin steroid diantaranya adalah : *Asparagosides (Asparagus officinalis)*, *Avenocosides (Avena sativa)*, *Disogenin (Dioscorea floribunda dan Trigonella foenum graceum)*.



Gambar 4.1. Struktur kimia saponin steroid netral



Gambar 4.2. Struktur kimia saponin steroid alkaloid

Sifat-sifat Saponin adalah:

1. Mempunyai rasa pahit
2. Dalam larutan air membentuk busa yang stabil
3. Menghemolisa eritrosit
4. Merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi
5. Membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidoksisteroid lainnya
6. Sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi
7. Berat molekul relatif tinggi, dan analisis hanya menghasilkan formula empiris yang mendekati.

Efek Fisiologis Senyawa Saponin pada Makhluk Hidup

Toksisitasnya mungkin karena dapat merendahkan tegangan permukaan (*surface tension*). Dengan hidrolisa lengkap akan dihasilkan sapogenin (aglikon) dan karbohidrat (hexose, pentose dan *saccharic acid*). Macam-macam saponin berbeda sekali komposisi kimianya, yaitu berbeda pada aglikon (sapogenin) dan juga karbohidratnya, sehingga tumbuh-tumbuhan tertentu dapat mempunyai macam-macam saponin yang berlainan, seperti:

- *Quillage saponin* : campuran dari 3 atau 4 saponin
- *Alfalfa saponin* : campuran dari paling sedikit 5 saponin
- *Soybean saponin* : terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam sapogenin, atau karbohidratnya, atau dalam kedua-duanya.

Kematian pada ikan, mungkin disebabkan oleh gangguan pernafasan. Ikan yang mati karena racun saponin, tidak toksik untuk manusia bila dimakan. Tidak toksiknya untuk manusia dapat diketahui dari minuman seperti bir yang busanya disebabkan oleh saponin. Contoh glikosida lain adalah tioglikosida dan bensiltioglikosida. Bila dihidrolisa dengan enzim menghasilkan tiosianat, isotiosianat dan bensilsianat yang merupakan racun dan mempunyai sifat antitiroid. Zat-zat toksik tersebut ada pada bawang, selada air, kacang-kacangan seperti kacang tanah, kacang kedele dan juga pada macam-macam kol.

Saponin bisa ditemukan pada tanaman liar maupun tanaman peliharaan, pada binatang laut tingkat rendah (lower marine animals), dalam beberapa bakteri, namun jarang ditemukan pada binatang tingkat tinggi (higher animals). Saponin Triterpenoid tersebar luas dalam lebih dari 500 spesies tanaman seperti, kedele, buncis, teh, beet, bunga matahari, ginseng, alfalfa, quillaja, spinach, horse chestnut, guar dan banyak lagi. Sedangkan Saponin Steroid terdapat dalam 85 spesies dari Genera *Agave*, *Discorea* and *Yucca*, dan dalam 56 Genera yang lain

seperti, tomat, asparagus, ginseng, dan oat. Dalam legume saponin berikatan dengan protein, jadi bisa ditemukan dalam bagian tumbuhan yang kaya protein.

Tipe dan macam Saponin berbeda tergantung banyak faktor, misalnya spesies, umur tanaman, dan bagian tanaman. Selain itu juga bisa dipengaruhi oleh cuaca, macam tanah, sinar matahari, tempat bercocok tanam dan banyak lagi. Dalam satu spesies mungkin mengandung lebih dari satu macam Saponin. Saponin mempunyai aktivitas biologi yang beragam. Aktivitas biologi ini dipengaruhi oleh kelas Aglycone, gugus polar pada Aglycone, macam karbohidrat yang terikat pada Aglycone, posisi terikatnya pada Aglycone, bahkan orientasi Saponin setelah mengikat membran sel juga ikut mempengaruhinya. Disini hanya akan dijelaskan secara singkat beberapa macam aktivitas saja, diantaranya:

1. Aktivitas Hemolisis

Saponin dapat menyebabkan sel darah merah pecah (lisis). Ini disebabkan karena Saponin dapat berikatan dengan kolesterol dari membran sel. Aktivitas ini berkurang kalau aglycone dibuang. Ciri-ciri yang lain dari aktivitas hemolisis ini, misalnya:

- a) Makin banyak karbohidrat yang terikat pada Aglycone makin kecil daya hemolisisnya.
- b) Kecepatan hemolisis Saponin Steroid lebih besar dari Saponin Triterpenoid
- c) Karbohidrat yang terikat pada C3 OH mempunyai daya hemolisis makin tinggi apabila jumlah unit monosakaridanya makin besar (kalau diurut daya hemolisis paling rendah meningkat ke urutan lebih tinggi adalah mono, di, tri, tetra, penta dan heksa sakarida).
- d) Makin banyak gugus polar pada Aglycone makin rendah daya hemolisisnya.
- e) Interaksi antara saponin dan membran sehingga Saponin dapat membentuk porus atau merusak membran perlu ditelaah lebih lanjut. Sepertinya beberapa mekanisme dan keadaan ikut terlibat, seperti: pembentukan Saponin kolesterol kompleks, perubahan

organisasi atau susunan membran fosfolipid, pemecahan fosfo lipida dan hasil senyawa yang terbentuk (DAG), Saponin struktur dan orientasinya dengan sel membran.

2. Mempengaruhi Sistem Imun

Telah dilaporkan bahwa Saponin dapat menginduksi produksi dari cytokine seperti interleukin dan interferon yang mungkin dapat memediasi efek immunostimulan. Saponin juga telah dibuktikan dapat meningkatkan respon imun melalui immunisasi oral. Hal ini disebabkan saponin dapat meningkatkan pengambilan (up take) antigen oleh usus dan sel mukosa yang lain (misalnya hidung). Menurut Odaet al.(2000) secara keseluruhan “juxtaposition” dari gugus fungsional hidrofilik dan hidrofobik lebih penting dari pada perbedaan struktur dari masing-masing kelompok yang memberikan kontribusi pengaruhnya saponin sebagai “adjuvan”. Contoh Saponin yang dapat meningkatkan imun respon: Panax ginseng C. A. Meyer saponins, Quillaja saponins, dan Lonicera japonica

Hasil penelitian diperoleh dengan terlebih dahulu dilakukan pembuatan serbuk simplisia spesimen. Pembuatan serbuk simplisia harus dikeringkan dan selanjutnya dicacah menjadi bagian yang kecil. Proses pengeringan berguna untuk mengurangi kadar air dalam daun sehingga hasil yang diperoleh lebih akurat. Sedangkan proses pencacahan berguna untuk memudahkan proses perebusan dan lebih cepat memperoleh hasil.

Serbuk simplisia selanjutnya dilarutkan dengan pelarut air dikarenakan jika menggunakan pelarut etanol maupun eter yang lazim digunakan dalam pembuatan ekstrak tanaman akan menyebabkan senyawa saponin sulit dilakukan uji kualitatif busa. Uji kualitatif busa merupakan uji paling sederhana untuk mendeteksi adanya senyawa saponin. Adanya senyawa saponin ditandai dengan adanya busa dengan ketinggian 1-3 cm selama 15 menit. Dapat juga ditambahkan asam klorida untuk lebih memastikan hilang tidaknya busa.



Gambar 4.4. Proses pencacahan bentuk organ daun sebelum daun direbus. Pencacahan dilakukan setelah tahap pengeringan.

Pengujian kandungan saponin dalam organ daun dilakukan secara kualitatif dengan uji busa. Berdasarkan hasil uji kualitatif busa terlihat bahwa uji positif mengandung saponin ditandai dengan munculnya busa dengan ketinggian 1-3 cm selama 15 menit. Pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 20 sampel tanaman yang secara uji literatur berkhasiat sebagai obat.



Gambar 4.5. Kumpulan tanaman obat yang digunakan dalam penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat 16 ekstrak tanaman positif mengandung saponin sedangkan 4 ekstrak tanaman lainnya negatif mengandung saponin. Keempat tanaman tersebut adalah Bayam merah (*Amaranthus gangeticus*), Ciplukan (*Physallis angulata Linn*), Bangle (*Zingiber purpureum Roxb*), dan Tapak liman (*Elephantopus scaber L*).

Masing-masing berasal dari ordo tanaman yang berbeda jauh. Seperti Bangle yang meruoakan kelompok tanaman dengan wangi yang khas dan ciri morfologi dengan akar rimpang. Sedangkan bayam merah merupakan kelompok tanaman perdu tanpa mengeluarkan aroma yang khas. Begitu juga dengan tapak liman dan ciplukan dengan ciri fisik berupa tanaman perdu dan memilikii ukuran lebih kecil dibandingkan yang lain. Secara morfologi dan fisiologi, keempat tanaman tersebut sangat berbeda. Sehingga ada tidaknya senyawa Saponin dalam suatu tanaman tidak dapat dihubungkan dengan ciri morfologi maupun fisiologi tanaman.



Gambar 4.6. Pembentukan busa saponin. Hasil uji busa pada daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) yang menunjukkan reaksi positif dengan ditandai adanya busa dengan ketinggian 3 cm selama 15 menit.



Gambar 4.7. Hasil uji busa pada daun Ciplukan (*Physallis angulata Linn*) yang menunjukkan reaksi negatif dengan ditandai tidak adanya busa.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut diketahui bahwa adanya senyawa saponin dalam suatu tanaman tidak mutlak dijadikan sebagai patokan bahwa tumbuhan tersebut dapat berkhasiat sebagai obat. Namun keberadaan senyawa Saponin dalam suatu tanaman memang dapat digunakan sebagai obat.

Tabel 4.1: Hasil uji kualitatif busa senyawa Saponin pada 20 tanaman berkhasiat sebagai obat.

No	Nama Tumbuhan Obat	Nama latin	Hasil Uji Kualitatif Busa Senyawa Saponin
1	Belimbing wuluh	<i>Averrhoa bilimbi</i>	POSITIF
2	Kemangi	<i>Ocimum citriodorum</i>	POSITIF
3	Delima	<i>Punica granatum L</i>	POSITIF
4	Pandan	<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.)	POSITIF
5	Kumis kucing	<i>Orthosiphon aristatus Benth</i>	POSITIF
6	Serei	<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle	POSITIF
7	Cucur bebek	<i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Per.	POSITIF
8	Katuk	<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr	POSITIF
9	Rambutan	<i>Nephelium lappaceum</i>	POSITIF
10	Jambu biji	<i>Psidium guajava</i> L.	POSITIF
11	Tapak dara	<i>Catharantus roseus</i> (L.) G. Don.)	POSITIF

12	Kapuk	<i>Gossypium herbaceum L</i>	POSITIF
13	Sirih	<i>Chavica betle L</i>	POSITIF
14	Belimbing manis	<i>Averrhoa carambola</i>	POSITIF
15	Tapak liman	<i>Elephantopus scaber L.</i>	NEGATIF
16	Pepaya	<i>Carica papaya L.</i>	POSITIF
17	Bayam merah	<i>Amaranthus gangeticus</i>	NEGATIF
18	Ciplukan	<i>Physallis angulata Linn.</i>	NEGATIF
19	Bangle	<i>Zingiber purpureum Roxb</i>	NEGATIF
20	Kembang sepatu	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	POSITIF

Dalam beberapa literatur dijelaskan bahwa Saponin mempunyai aktivitas biologi yang beragam. Aktivitas biologi ini dipengaruhi oleh kelas Aglycone, gugus polar pada Aglycone, semacam karbohidrat yang terikat pada Aglycone, posisi terikatnya pada Aglycone, bahkan orientasi Saponin setelah mengikat membran sel juga ikut mempengaruhinya.

Beberapa jenis aktifitas senyawa Saponin adalah dalam proses hemolisa. Saponin dapat menyebabkan sel darah merah pecah (lisis). Ini disebabkan karena Saponin dapat berikatan dengan kholesterol dari membran sel. Aktivitas ini berkurang kalau aglycone dibuang. Aktifitas lainnya adalah dapat mempengaruhi Sistem Imun. Saponin dapat menginduksi produksi dari cytokine seperti interleukin dan interferon yang mungkin dapat memediasi efek immunostimulan. Saponin juga telah dibuktikan dapat meningkatkan respon imun melalui immunisasi oral. Hal ini disebabkan saponin dapat meningkatkan pengambilan (*up take*) antigen oleh usus dan sel mukosa yang lain (misalnya hidung). Menurut Odaet al.(2000) secara keseluruhan “*juxta-position*” dari gugus fungsional hidrofilik dan hidrofobik lebih penting dari pada perbedaan struktur dari masing-masing kelompok yang memberikan kontribusi pengaruhnya saponin sebagai “*adjuvan*”.

Saponin banyak dipelajari terutama karena kandungannya kemungkinan berpengaruh pada nutrisi (Appeabaum and Birk, 1979). Saponin dapat memberikan efek *antitussives* dan *expectorants* (eccles dan weber, 2009). Efek tersebut membantu menyembuhkan batuk.

Saponin yang memiliki sifat *antiinflammatory* juga telah terbukti efektif untuk menyembuhkan edema (respon *inflammatory*) pada tikus dan memiliki aktivitas *antiinflammatory*. Kemampuan saponin tersebut menjadikan saponin sebagai metabolit sekunder yang penting bagi bidang medis.

BAB 5

BAKTEROID PADA BINTIL AKAR TANAMAN KACANG-KACANGAN

Sebanyak 80% gas Nitrogen berada di atmosfer, namun tidak langsung dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan. Agar nitrogen dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan, maka N_2 terlebih dahulu harus diubah. Kecenderungan bakteri untuk berinteraksi terhadap akar tanaman kacang-kacangan disebabkan oleh adanya interaksi antara akar tumbuhan leguminosa dengan bakteri. Hal tersebut terjadi karena adanya pertukaran sinyal antara tumbuhan dan bakteri tersebut (Campbell & Reece, 2009). Tanaman mensekresikan senyawa-senyawa flavonoid yang gugus fenolnya bersama dengan NodD (protein penggerak) dari bakteri menginduksi ekspresi dari gen pembentukan nodul dari bakteri. Sebagai hasilnya, bakteri memproduksi Nod factors. Induksi Nod factors direspon oleh tanaman (yang salah satunya) dengan pembentukan nodul.

Kecendrungan jenis bakteri yang tumbuh pada akar tanaman kacang-kacangan ini juga telah diteliti pada beberapa penelitian. Bakteri yang biasanya membentuk bintil akar pada tanaman kacang-kacangan adalah *Rhizobium sp.* Liu (2012) menyatakan bahwa *Galega officinalis* dan *Hedysarum Coronarium* yang merupakan jenis tanaman legume paling banyak di New Zealand merupakan jenis tanaman legume yang paling efektif dalam pembentukan nodul akar terkait interaksinya terhadap bakteri *Rhizobium galegae* dan *R. sula*.

Nodulasi pada Akar Kacang-kacangan

Terbentuknya bintil akar pada akar tanaman legume melibatkan bakteri pengikat nitrogen yaitu bakteri *Rhizobium sp.* melalui proses berikut ini:

1) PERTUKARAN SINYAL

Pertukaran sinyal terjadi antara tanaman legume dengan *Rhizobium sp.* tersebut. Tanaman legume mensekresikan senyawa-senyawa flavonoid. Gugus fenol pada senyawa flavonoid tersebut bersama dengan NodD (protein penggerak) dari bakteri *Rhizobium sp.*

menginduksi ekspresi dari gen pembentukan nodul pada *Rhizobium sp.* Kemudian *Rhizobium sp.* memproduksi Nod factors. Induksi Nod factors direspon oleh tanaman (yang salah satunya) dengan pembentukan nodul (Campbell & Reece, 2009).

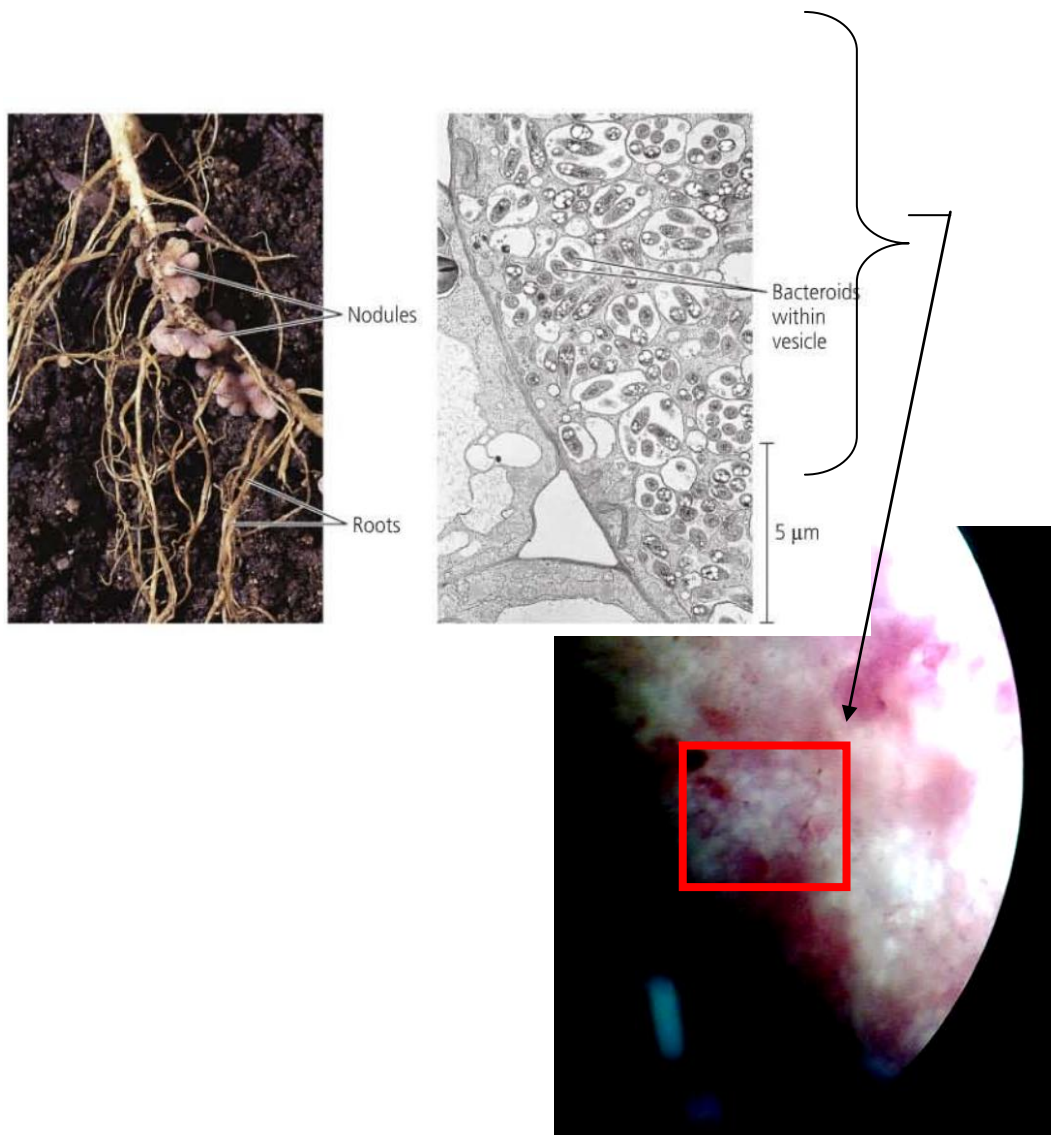
2) PEMBENTUKAN NODUL

Pembentukan nodul dimulai saat tanaman merespon Nod faktor dari *Rhizobium sp.* Adanya Nod faktor menyebabkan akar tanaman memanjang (*elongation*) dan membentuk ulir infeksi (*infection thread*) melalui invaginasi pada membrane plasma akar tanaman legume. Selanjutnya terjadi kolonisasi bakteri *Rhizobium sp.* dan menempel pada rambut akar. *Rhizobium sp.* terjebak di dalam lekukan lipatan rambut akar (ulir infeksi) sehingga *Rhizobium sp.* mencoba masuk melalui dinding sel dengan menyusup membentuk infeksi. Kemudian bakteri membelah diri hingga terbentuk nodul dan bakteri tersebut terdiferensiasi menjadi bakteroid dan mulai mengikat nitrogen (Campbell & Reece, 2009).

Proses Pewarnaan bakteroid

Jenis mikroorganisme pada bintil akar merupakan jenis bakteri. Pengamatan mikroskopik bakteri membutuhkan pewarnaan karena struktur bakteri yang sangat kecil. Bakteri dengan ciri selnya yang tunggal merupakan jenis sel yang prokariotik dan masih sangat sederhana. Pewarnaan yang diberikan merupakan salah satu upaya memudahkan pengamatan secara mikroskopis. Proses pewarnaan terdiri atas 3 tahap yaitu tahap sterilisasi, fiksasi, dan pewarnaan. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan pewarna karbol fuchsin.

Tahap sterilisasi melibatkan alkohol (70%), selain itu digunakan juga larutan H_2O_2 dengan sifat higroskopisnya. Pada tahap fiksasi dilakukan dengan pemanasan beberapa detik untuk mengikat sampel pada object glass agar tetap berada di posisinya saat diwarnai. Sedangkan pada tahap pewarnaan, setelah diwarnai, sampel dialiri aquades agar warna yang ditampilkan saat pengamatan dengan menggunakan mikroskop tidak terlalu gelap (merah).



(b)

Gambar 5.1: bakteroid pada akar kacang-kacangan. (a) bintil akar (kiri) dan bakteroid dalam sel-sel akar tanaman kacang-kacangan (kanan) yang diperoleh dari literatur (Campbell & Reece, 2009); (b) gambar bakteroid yang diperoleh dari hasil pengamatan dengan perbesaran 40x.

Pengamatan fisik bintil akar

Bintil akar dapat dengan mudah diamati pada tiap akar kacang-kacangan. Bintil akar terdapat pada hampir semua bagian akar kacang-kacangan dengan jumlah masing-masing bintil akar sekitar 2-5 bintil akar. Selain itu, terdapat beberapa perbedaan warna pada masing-masing bintil akar. Pada warna coklat muda, bintil akar tergolong masih muda, sedangkan pada warna coklat tua, bintil akar tergolong sudah tua.

Bintil akar yang telah berwarna kehitaman merupakan bintil akar yang telah mati karena tidak mengandung bakteroid lagi. Dalam Oke & Long (1999), dijelaskan bahwa nodul yang telah tua adalah nodul yang tidak lagi dapat melakukan simbiosis dengan akar tanaman dan tidak dapat mengikat nitrogen. Nodul tersebut pada akhirnya tidak mengandung substansi cairan (bakteroid) lagi di dalamnya.

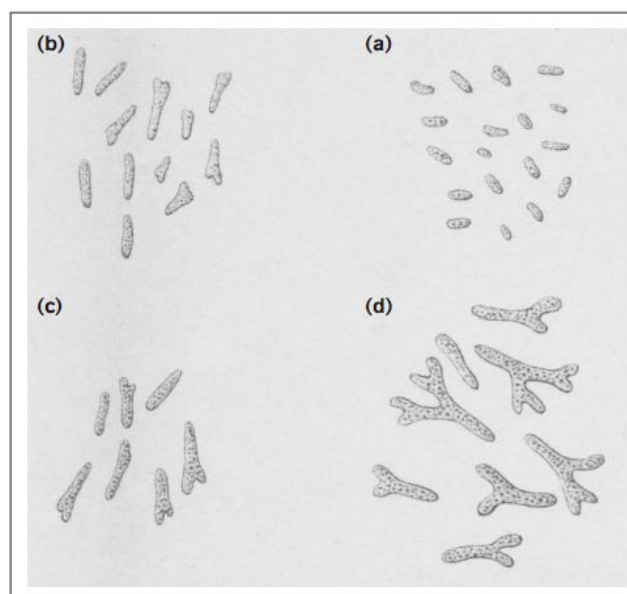
Adanya nodul yang mati serta bintil akar yang berwarna kehitaman mengindikasikan bahwa pertumbuhan bakteroid memiliki pola. Bakteri memiliki pola-pola pertumbuhan yaitu fase awal, eksponensial, stasioner dan terakhir adalah fase akhir (mati). Pada fase akhir (mati), bintil akar cenderung berwarna gelap dan tidak mengandung substansi di dalamnya. Pada tiap bintil akar yang masih berwarna coklat, mengandung cairan saat ditekan. Cairan tersebut jika diberi pewarnaan dan diamati dengan menggunakan mikroskop akan ditemukan adanya kumpulan sel yang memiliki pola saling rapat dan bentuk bulat.

Pengamatan bakteroid

Pengamatan bakteroid ditandai dengan adanya kumpulan sel berbentuk bulat pada perbesaran 40x. Bentuk ini memiliki pola dan saling rapat. Hampir tidak terlihat adanya ruang antar sel diantara masing-masing bulatan. Bentuk tersebut dianggap sebagai bakteroid, karena berdasarkan literatur yaitu pada Campbell (2009), dijelaskan bahwa bakteri pembentuk bintil akar cenderung hidup berkoloni pada akar hingga terbentuk bintil akar.

Koloni tersebut jika diamati dengan perbesaran yang lebih besar dari 40x akan terlihat dengan jelas kumpulan sel dengan bentuk bulat dan cenderung tidak memiliki ruang antar sel.

Selanjutnya, beberapa sampel yang diberi pewarnaan dengan karbol fuchsin menggambarkan bentuk sel yang bulat. Bentuk bulat tersebut mengindikasikan bahwa bintil akar yang diamati masih tergolong muda. Studi literatur yang berkaitan dengan bentuk bakteroid ini, dinyatakan oleh Beijerinck pada tahun 1888 dalam Oke & Long (1999). Beijerinck menyatakan bahwa bakteroid akan mengalami diferensiasi bentuk secara bertahap (Oke & Long, 1999). Bakteroid memiliki empat bentuk yaitu (a) bulat, (b) batang pendek, (c) batang panjang, dan (d) bentuk Y.



Gambar 5.2. Diferensiasi bakteroid, (a) bulat, (b) batang pendek, (c) batang panjang, dan (d) bentuk Y (Oke & Long, 1999).

Spesies bakteroid

Jenis bakteri yang hidup pada akar tanaman kacang-kacangan berbeda-beda. Pada pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan *Arachis hipogaea*, spesies rhizobia yang tumbuh adalah *Bradyrhizobium spp.* Genus *Bradyrhizobium* memiliki karakteristik dengan

tingkat pertumbuhan lama (*slow growth*) saat ditumbuhkan dalam kondisi in vitro (Anonim, 2011). Beberapa jenis tanaman lainnya dengan jenis rhizobi *Bradyrhizobium spp.* Adalah *Cajanus cajan*, *vigna spp.*, *Phaseolus lunatus*, *Acacia mearnsii*, *A. mangium*, *Albizia spp.*, *Enterlobium spp.*, *Desmodium spp.*, *Stylosanthes spp.*, Kacang bogor (*Voandzeia subterranea*), *Centrosema sp.*, *Psophocarpus tetragonolobus*, *Lablab purpureus*, *Macroptilium atropurpureum*, *Cyamopsis tetragonoloba*, *Calopogonium mucunoides*, *Pueraria phaseoloides*. (Anonim, 2011).

Beberapa jenis rhizobia lainnya adalah *Rhizobium leguminosarum bv. viceae*, *R.I. bv. phaseoli*, *R.I. bv. trifolii*, *R. meliloti* (dari kelompok tumbuhan alfalfa), *Rhizobium sp.*, dan *Bradyrhizobium japonicum*. Selain itu, beberapa jenis rhizobia yang sama dapat juga tumbuh pada tumbuhan yang tidak tepat (bukan inangnya) namun nodulasi yang terjadi kurang efektif dengan warna nodulasi berwarna hijau hingga putih pucat (Anonim, 2011).

BAB 6

AUKSIN DAN ABSISI

Istilah auksin pertama kali digunakan oleh Frist Went seorang mahasiswa PascaSarjana di negeri Belanda pada tahun 1926 yang kini diketahui sebagai asam indol-3 aasetat atau IAA (Salisbury dan Ross 1995). Senyawa ini terdapat cukup banyak di ujung koleoptil tanaman oat ke arah cahaya. Dua mekanisme sintesis IAA yaitu pelepasan gugus amino dan gugus karboksil akhir dari rantai triptofan. Enzim yang paling aktif diperlukan untuk mengubah triptofan menjadi IAA terdapat di jaringan muda seperti meristem tajuk, daun serta buah yang sedang tumbuh. Semua jaringan ini memiliki kandungan IAA paling tinggi karena disintesis di daerah tersebut.

IAA terdapat di akar pada konsentrasi yang hampir sama dengan di bagian tumbuhan lainnya (Salisbury dan Ross 1995). IAA dapat memacu pemanjangan akar pada konsentrasi yang sangat rendah. IAA adalah auksin endogen atau auksin yang terdapat dalam tanaman. IAA berperan dalam aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman yaitu pembesaran sel yaitu koleoptil atau batang penghambatan mata tunas samping, pada konsentrasi tinggi menghambat pertumbuhan mata tunas untuk menjadi tunas absisi (pengguguran) daun. Aktivitas dari kambium dirangsang oleh IAA pertumbuhan akar pada konsentrasi tinggi dapat menghambat perbesaran sel-sel akar.

Auksin berperan dalam berbagai macam kegiatan tumbuhan di antaranya adalah:

1. Perkembangan buah

Pada waktu biji matang berkembang, biji mengeluarkan auksin ke bagian-bagian bunga sehingga merangsang pembentukan buah. Dengan demikian, pemberian auksin pada bunga yang tidak diserbuki akan merangsang perkembangan buah tanpa biji. Hal ini disebut *partenokarpi*.

2. Dominansi apikal

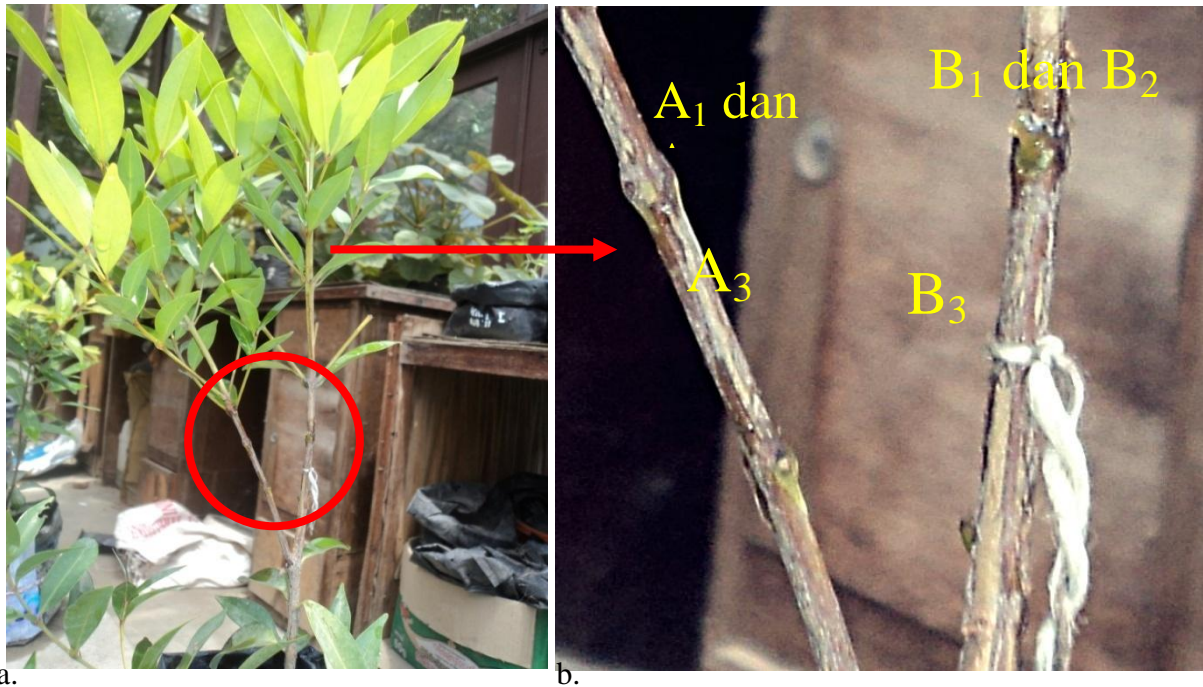
Dominansi apikal adalah pertumbuhan ujung pucuk suatu tumbuhan yang menghambat perkembangan kuncup lateral di batang sebelah bawah. Dominansi apikal merupakan akibat dari transpor auksin ke bawah yang dibuat di dalam meristem apikal.

3. Absisi

Daun muda dan buah muda membentuk auksin, agar keduanya tetap kuat menempel pada batang. Tetapi, bila pembentukan auksin berkurang, selapis sel khusus terbentuk di pangkal tangkai daun dan buah sehingga daun dan buah gugur.

Absisi adalah suatu proses secara alami terjadinya pemisahan bagian atau organ tanaman, seperti: daun, bunga, buah atau batang. Dalam proses absisi ini faktor alami seperti: panas, dingin, kekeringan akan berpengaruh terhadap absisi. Proses penurunan kondisi yang menyertai pertumbuhan umur, yang mengarah kepada kematian organ atau organisme, disebut penuaan (senescensi). Gugurnya daun dipacu juga oleh faktor lingkungan, termasuk panjang hari yang pendek pada musim gugur dan suhu yang rendah. Rangsangan dari faktor lingkungan ini menyebabkan perubahan keseimbangan antar etilen dan auksin.

Auksin mencegah absisi dan tetap mempertahankan proses metabolisme daun, tetapi dengan bertambahnya umur daun jumlah etilen yang dihasilkan juga akan meningkat. Sementara itu, sel-sel yang mulai menghasilkan etilen akan mendorong pembentukan lapisan absisi. Lapisan absisi merupakan areal sempit yang tersusun dari sel-sel parenkima berukuran kecil dengan dinding sel yang tipis dan lemah. Selanjutnya etilen merangsang lapisan absisi terpisah dengan memacu sintesis enzim yang merusak dinding-dinding sel pada lapisan absisi.



a. b.
Gambar 6.1 Tangkai pada batang daun tumbuhan yang diberi perlakuan. (a)Tangkai daun yang diberi perlakuan Auksin (yang memiliki benang) dan tanpa auksin. (b) perbesaran dari tangkai daun yang diberi 2 perlakuan, pada perlakuan pertama (tanpa auksin) yaitu A_1 , A_2 (sisi belakang), dan A_3 , tangkai daun telah mati, sedangkan pada perlakuan kedua (diberi auksin) yaitu B_1 , B_2 (sisi belakang), dan B_3 , tangkai daun tidak mati.

Pada hasil percobaan terhadap tangkai daun yang diberi auksin dan tidak diberi auksin, diperoleh hasil bahwa keduanya cenderung tidak menunjukkan pertambahan panjang tangkai yang progresif. Pertambahan panjang tangkai daun pada kedua perlakuan hanya bertambah dengan selisih angka sekitar 0.1 cm. Perbedaan panjang tangkai daun ini kurang dapat menjadi pembeda antar kedua perlakuan dikarenakan tumbuhan yang digunakan sebagai sampel percobaan merupakan tumbuhan dengan panjang tangkai daun yang tidak panjang. Sehingga persentase kesalahan dalam pengukuran dapat menjadi semakin besar.

Khusus pada perlakuan pertama yaitu tangkai daun yang tidak diberi auksin, tangkai daun A_1 dan A_2 membusuk (mati) pada hari ke 9 dan tangkai daun A_3 membusuk pada hari ke 12 dengan ditandai tangkai daun berwarna kecoklatan. Sedangkan pada perlakuan kedua, yaitu tangkai daun yang diberi auksin, B_1 , B_2 , dan B_3 tidak mengalami pembusukan (gambar 2b) dengan ditandai tangkai daun berwarna hijau muda.

Tangkai daun yang masih berwarna hijau tersebut menunjukkan bahwa auksin berfungsi mempertahankan proses metabolisme dan mencegah terbentuknya lapisan absisi. Lapisan absisi merupakan areal sempit pada pangkal tangkai daun yang tersusun dari sel-sel parenkima berukuran kecil dengan dinding sel yang tipis dan lemah. Dalam proses absisi ini faktor alami seperti: panas, dingin, kekeringan akan berpengaruh terhadap absisi. Rangsangan dari faktor lingkungan ini (termasuk memberikan dua perlakuan yang berbeda, tanpa auksin dan diberi auksin) menyebabkan perubahan keseimbangan antar etilen dan auksin.

Auksin mencegah absisi dan tetap mempertahankan proses metabolisme daun, tetapi dengan bertambahnya hari (umur tumbuhan) jumlah etilen yang dihasilkan juga akan meningkat. Sel-sel yang mulai menghasilkan etilen akan mendorong pembentukan lapisan absisi. Bila pembentukan auksin berkurang atau tidak ada (pada perlakuan pertama), maka lapisan absisi akan ‘memisahkan’ tangkai daun dengan batangnya sehingga tangkai daun gugur.

Proses pemisahan ini terjadi karena lapisan absisi yang terbentuk menghambat aliran air dan zat makanan pada ujung tangkai daun. Jika aliran air dan zat makanan terhambat maka sel-sel yang terdapat pada ujung tangkai daun tidak dapat melakukan proses metabolisme. Sehingga tangkai daun yang mati akan berwarna coklat karena sel-selnya berhenti mensintesis pigmen klorofil. Selanjutnya etilen merangsang lapisan absisi terpisah dengan memacu sintesis enzim yang merusak dinding-dinding sel pada lapisan absisi.

Pemberian auksin pada ujung tangkai daun (perlakuan kedua) dapat mencegah terbentuknya lapisan absisi pada pangkal daun. Sedangkan ujung tangkai daun yang tidak diberi auksin (perlakuan pertama) akan terbentuk lapisan absisi pada pangkal daun. Lapisan absisi akan menghambat aliran air dan zat makanan lainnya ke sel-sel yang ada pada tangkai daun sehingga ujung tangkai daun mudah mati. Hal ini terbukti dengan gugurnya tangkai

daun pada perlakuan pertama pada hari ke 9 dan 12. Sedangkan ujung tangkai daun pada perlakuan kedua tidak mati hingga hari terakhir pengamatan.

BAB 7

PENGARUH KUALITAS TEMPE DENGAN BAHAN DASAR YANG BERBEDA

Tempe adalah produk fermentasi yang sangat dikenal oleh masyarakat Indonesia dan mulai digemari pula oleh berbagai kelompok masyarakat Barat. Tempe dapat dibuat dari berbagai bahan. Namun demikian, yang biasa dikenal sebagai tempe oleh masyarakat pada umumnya adalah tempe yang dibuat dari kedelai. Melalui proses fermentasi, kedelai menjadi lebih enak dan meningkat nilai nutrisinya. Rasa dan aroma kedelai memang berubah sama sekali setelah menjadi tempe (Restuati, 2011).

Pembuatan tempe melalui tiga tahap, yaitu: (1) Hidrasi dan pengasaman biji kedelai dengan merendam beberapa lama, (2) sterilisasi terhadap sebagian biji kedelai (3) fermentasi oleh jamur tempe yang diinokulasi segera setelah sterilisasi. Jamur tempe yang banyak digunakan adalah *Rhizous oligosporus* (Restuati, 2011). Beberapa jenis jamur lainnya adalah *Rh. oryzae*, *Rh. stolonifer* (kapang roti), atau *Rh. Arrhizus*. Jamur-jamur ini membentuk padatan kompak berwarna putih.. Warna putih pada tempe disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai. Tekstur kompak juga disebabkan oleh miselia jamur yang menghubungkan biji-biji kedelai tersebut. Banyak sekali jamur yang aktif selama fermentasi, tetapi umumnya para peneliti menganggap bahwa *Rhizopus sp* merupakan jamur yang paling dominan. Jamur yang tumbuh pada kedelai tersebut menghasilkan enzim-enzim yang mampu merombak senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga senyawa tersebut dengan cepat dapat dipergunakan oleh tubuh.

Jamur *Rhizopus oryzae* merupakan jamur yang sering digunakan dalam pembuatan tempe (Soetrisno, 1996). Jamur *Rhizopus oryzae* aman dikonsumsi karena tidak menghasilkan toksin dan mampu menghasilkan asam laktat. Jamur *Rhizopus oryzae* mempunyai kemampuan mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino. Selain itu jamur *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan protease. *Rhizopus sp* tumbuh baik

pada kisaran pH 3,4-6. Secara umum jamur juga membutuhkan air untuk pertumbuhannya, tetapi kebutuhan air jamur lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri. Selain pH dan kadar air yang kurang sesuai untuk pertumbuhan jamur, jumlah nutrisi dalam bahan, juga dibutuhkan oleh jamur.

Kapang yang tumbuh pada kedelai menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia. Tempe kaya akan serat pangan, kalsium, vitamin B dan zat besi. Berbagai macam kandungan dalam tempe mempunyai nilai obat, seperti [antibiotika](#) untuk menyembuhkan [infeksi](#) dan [antioksidan](#) pencegah penyakit degeneratif.

Pada dasarnya proses pembuatan tempe merupakan proses penanaman mikroba jenis jamur *Rhizopus sp* pada media kedelai, sehingga terjadi proses fermentasi kedelai oleh ragi tersebut. Hasil fermentasi menyebabkan tekstur kedelai menjadi lebih lunak, terurainya protein yang terkandung dalam kedelai menjadi lebih sederhana, sehingga mempunyai daya cerna lebih baik dibandingkan produk pangan dari kedelai yang tidak melalui proses fermentasi.

Tempe terbuat dari kedelai dengan bantuan jamur *Rhizopus sp*. Jamur ini akan mengubah protein kompleks kacang kedelai yang sukar dicerna menjadi protein sederhana yang mudah dicerna karena adanya perubahan-perubahan kimia pada protein, lemak, dan karbohidrat. Selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe, akan dihasilkan antibiotika yang akan mencegah penyakit perut seperti diare.

Pengaruh kualitas tempe dengan bahan dasar yang berbeda akan menghasilkan hasil produk tempe yang berbeda juga. Kacang hijau tidak menunjukkan adanya fermentasi jamur *Rhizopus sp* dengan baik sehingga tidak dapat menjadi sebuah tempe. Sedangkan pada kacang kedelai menunjukkan adanya fermentasi *Rhizopus sp* dan menghasilkan tempe.

Sedangkan pada jenis kacang lainnya seperti kacang merah dan kacang putih juga menunjukkan hasil yang baik namun sedikit memiliki bau yang menyengat.

Penyebab adanya perbedaan hasil pada pengamatan pengaruh kualitas tempe dengan bahan dasar yang berbeda adalah karena masing-masing kacang memiliki spesifikasi yang berbeda-beda. Terbukti bahwa sebagian besar jenis kacang yang umum digunakan adalah kacang kedelai. Spesifikasi yang berbeda tersebut adalah jamur *Rhizopus sp* paling sesuai untuk melakukan fermentasi pada jenis kacang kedelai. Sedangkan kacang hijau maupun kacang lainnya kemungkinan memerlukan perlakuan yang berbeda pada tahap-tahap pembuatannya. Misalnya pada tahap perebusan, kacang hijau, kacang putih dan kacang merah memerlukan perebusan yang lebih lama dibanding kacang kedelai.

Pengaruh Pemberian Ragi Tempe Terhadap Kacang Kedelai

Berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh bahwa ragi tempe yang diberikan pada masing-masing jenis kacang, sebagian besar dapat menghasilkan produk tempe. Namun hanya pada jenis kacang hijau, produk tempe belum berhasil dilakukan. Produk tempe ini diperoleh karena adanya aktivitas *Rhizopus sp.* yang berasal dari ragi tempe. *Rhizopus sp.* membentuk benang-benang yang disebut sebagai benang hifa. Benang-benang hifa ini mengikatkan biji kacang yang satu dengan biji kacang lainnya, sehingga biji-biji kedelai ini membentuk suatu massa yang kompak. Massa kacang ini selanjutnya disebut sebagai tempe. Lebih lanjut dijelaskan dalam Restuati (2011) tentang mekanisme pembentukan tempe. Terdapat dua mekanisme pembentukan tempe yaitu perkecambahan spora dan proses miselia menembus jaringan biji kedelai. Pada tahap perkecambahan biji, terjadi dua tahapan yaitu pembengkakan dan penonjolan keluar dari kecambah. Kondisi optimal perkecambahan adalah pada suhu 42C dan Ph 4,0. Pembengkakan yang terjadi diikuti dengan penonjolan

keluar tabung kecambahnya. Senyawa-senyawa yang dapat menjadi pendorong terjadinya perkecambahan adalah asam amino, prolin dan senyawa glukosa.

Selanjutnya pada tahap penembusan miselia pada jaringan biji kedelai, proses fermentasi hifa jamur tempe dengan menembus biji kedelai yang keras mengambil makanan dari biji kedelai. Karena penetrasi dinding sel biji tidak rusak meskipun sisi selnya dirombak dan diambil. Rentang kedalaman penetrasi miselia ke dalam biji melalui sisi luar biji yang cembung dan hanya pada permukaannya saja dengan sedikit penetrasi miselia, menerobos ke dalam lapisan sel melalui sela-sela dibawahnya. Sedangkan perubahan kimiawi seterusnya dalam biji terjadi oleh aktivitas enzim ekstraseluler yang diproduksi ujung miselia.

Pengaruh Aerasi Terhadap Kualitas Produk Tempe.

Dalam Restuati (2011) dijelaskan bahwa aerasi yang berlebihan dapat memacu proses pembentukan apora (sporulasi) dari miselia jamur tempe sehingga tempe akan tampak kehitaman. Kelembaban yang cocok untuk pertumbuhan jamur tempe berkisar 90-95%, dan apabila kurang lembab maka akan menyebabkan jamur tidak dapat tumbuh dan berkembang dengan baik yang tentu mempengaruhi kualitas tempe yang dihasilkan.

Hal ini dapat dibuktikan melalui hasil praktikum yang menunjukkan bahwa kualitas tempe pada jumlah lubang 10 dibanding dengan jumlah lubang 5, memiliki kualitas tempe yang jauh lebih bagus. Sehingga aerasi pada jumlah lubang 10 memiliki aerasi yang baik pada produk tempe yang dihasilkan.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi kualitas tempe adalah pada tempat pembungkus. Jika tempat pengemasan dapat menjamin aerasi yang merata secara terus menerus dan sekaligus dapat menjaga agar kelembaban tetap tinggi tanpa menimbulkan pengembunan. Hal ini dapat dilihat dari hasil produk tempe pada kemasan plastic dan daun. Khususnya pada jenis kacang hijau, pada kemasan plastic, kacang hijau sama sekali tidak

dapat menghasilkan tempe. Sedangkan pada kemasan daun, benang-benang hifa saling beruntai dan mengikat biji kacang yang satu dengan yang lainnya hingga dihasilkan tempe (walaupun hasil yang diperoleh belum maksimal). Sehingga dapat disimpulkan bahwa kemasan daun lebih digunakan karena memiliki aerasi yang baik sedangkan kemasan plastik dipengaruhi oleh jumlah lubang yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, Bruce. 2008. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science. United State of America.
- Anonim. 2011. *Introduction of Rhizobia*. Rhizobia pdf. (Diakses tanggal 21 November 2013).
- Anonim. 2011. Cara uji mikrobiologi-Bagian 9: Penentuan *Staphylococcus aureus* pada produk perikanan. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. SNI 2332.9:2011. Diakses di www.bsn.go.id
- Appeabbaum, S.W. and Birk Y. 1979 . *Saponin didalam A Rosental*. Herbeviores. Academic Press. Hal. 539-561.
- Anasta, P.Y., Mohammad B. dan Indra L. 2013 Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder pada Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk Uji *In Vitro* Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas hydrophyla*. E-Journal.
- Aryulina, Diah, dkk. 2007. Biologi 3. Jakarta : Penerbit Erlangga
- Aviana, T. 2006. *Isolasi Dan Identifikasi Struktur Molekul Senyawa Kimia Daun Binahong (Anredera cordifolia)*. Tesis. Program Pascasarjana. Program Studi Ilmu Kimia. Universitas Indonesia. Depok.
- Azhar, RY. 2012. Cara Membuat Bakteri Acetobacter Xylinum (Bakteri Nata). Diakses pada tanggal 5 September 2013 di <http://share-pangaweruh.com/2012/07/cara-membuat-bakteri-acetobacter.html>
- Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol 15(1). Hal. 3-5.
- Campbell, N. A., & Reece, J.A. 2009. *Biology Eight Edition*. Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Deacon, J. 1997. *The Microbial World: Biofilms*. Institute of Cell and Molecular Biology, The University of Edinburgh.
- DepKes RI, 1979. *Materia Medika Indonesia*, Edisi III. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 167, 170-171.
- _____. 2000. *Parameter standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 1-2.
- Eccles, R. & Weber, O. (2009). *Common Cold*. London: Springer
- Fahn, A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.

- Gritter, R.J., James M.B. and Arthur E.S. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hayati, E. K, A. Jannah, dan A. G. Fasya. 2009. Aktivitas Antibakteri Komponen Tanin Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Billimbi* L) Sebagai Pengawet Alami, *Penelitian Kompetitif Depag*. Malang, UIN, Malang.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Padmawinata K, Soediro I, Niksolihin S. Terbitan Pertama. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hal. 151.
- Hayyim & Ohad (1995) Synthesis of Cellulose by *Acetobacter Xylinum*. On the Formation and Orientation of Bacterial Cellulose Fibrils in the Presence of Acidic Polysaccharides. *The Journal of Cell Biology*. Volume 5.
- Herawati, D., Lilis N. dan Sumarto. 2012. Cara produksi simplisia yang baik. *Seafast Center*. Institut Pertanian Bogor. Hal. 11.
- Ilyas, A.M., 1995. *Kamus Lengkap Biologi*. Jakarta. CV. Putra Karya.
- Liu, W.Y.Y., et al. 2012. Characterisation of rhizobia nodulating *Galega officinalis* (goat's rue) and *Hedysarum coronarium* (sulla). *New Zealand Plant Protection* 65: 192-196.
- Misgiyarta. 2007. *Teknologi Pembuatan Nata de Coco*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Oke, V & Long, S.R., 1999. Bacteroid formation in the *Rhizobium*–legume symbiosis. *Current Opinion in Microbiology* (2):641–646.
- Pelezer, Michael. 2006. *Mikrobiologi Dasar*. Universitas Indonesia Press : Jakarta
- Pratama, M.A., Hosea J.E., dan Jovie M.D. 2012 Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Pharmakon*. Vol. 1 (2). Hal. 86-92. E-Journal.
- Prihatna, K. 2001. *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Penelitian Perkebunan Gambung. Bandung.
- Rachmawati, S. 2008. *Studi Makroskopik Dan Skrining Fitokimia Daun Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*. Tesis. Universitas Airlangga.
- Restuati, M. 2011. *Mikrobiologi Industri*. FMIPA UNIMED.
- Sangi, M., Max R.J.R., Herny E.I.S., Veronica M. A. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog*. Vol. 1(1).
- Salisbury, FB. & CW. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Terjemahan: Lukman, DR. & Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Suliantari, 1993. Nata de Coco. *Buletin Pusbangtepa/FTDC-IPB*. Vol 5. No 6. 40-48.

- Sundari, T., 2011. Bentuk Sel Epidermis, Tipe dan Indeks Stomata 5 Genotipe Kedelai pada Tingkat Naungan Berbeda. *Jurnal Biologi Indonesia* 7 (1): 67-79.
- Wulan, A., 2010. *Struktur dan Fungsi Jaringan Tumbuhan*. Diakses dari <http://leeyaleeyut.wordpress.com/2010/10/01/struktur-dan-fungsi-jaringan-tumbuhan/> pada tanggal 30 September 2012
- Salisbury, FB. & CW. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Terjemahan: Lukman, DR. & Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.